



Universitat
de Barcelona

Administració oral de fàrmacs poc solubles mitjançant el disseny de solucions i suspensions sòlides

Gemma Casadevall i Pujals

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE FARMÀCIA

DEPARTAMENT DE FARMÀCIA I TECNOLOGIA FARMACÈUTICA

Recerca, Desenvolupament i Control de Medicaments

**ADMINISTRACIÓ ORAL DE FÀRMACS POC SOLUBLES
MITJANÇANT EL DISSENY DE
SOLUCIONS I SUSPENSIONS SÒLIDES**

Gemma Casadevall i Pujals

Barcelona, 2013

UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE FARMÀCIA

DEPARTAMENT DE FARMÀCIA I TECNOLOGIA FARMACÈUTICA

Recerca, Desenvolupament i Control de Medicaments

**ADMINISTRACIÓ ORAL DE FÀRMACS POC SOLUBLES
MITJANÇANT EL DISSENY DE
SOLUCIONS I SUSPENSIONS SÒLIDES**

Memòria presentada per **Gemma Casadevall i Pujals** per a optar al títol de doctor per
la Universitat de Barcelona

Director:

Prof. Dr. Josep Ma Suñé i Negre

Gemma Casadevall i Pujals
Barcelona, 2013

A l'Oriol, el Pau i l'Anna

AGRAÏMENTS

Les primeres paraules d'agraïment d'aquesta tesi són per qui l'ha feta possible: el Prof. Dr. Josep Ma Suñé, primerament perquè ell m'ha ensenyat a estimar la galènica, des de les bases, fins a la pràctica, per tots els estius que em va acollir al SDM, i per el seu suport, confiança, professionalitat i passió que m'han acompanyat sempre en els meus reptes professionals.

A tots els companys de feina que he tingut fins ara, des de l'SDM, passant per el Grup Ferrer, Alza (Johnson&Johnson), Laboratoris Lacer i al Grup Esteve, perquè tots vosaltres m'heu ajudat a forjar valors i a créixer com a persona i com a professional, dia rere dia. Espero seguir aprenent de tots vosaltres: m'omple i m'apassiona.

Molt especialment, al grup de desenvolupament de productes orals de J&J, que ha fet possible aquesta recerca i col.laboració i a tots els grups de suport, des del de caracterització fisicoquímica al de farmacocinètica, sense vosaltres això no hauria estat possible. Malgrat us trobeu a l'altra banda de l'atlàntic, no hi ha dia que no pensi en vosaltres o en “com ho fariem això des del Silicon Valley...” sempre us he admirat! per innovadors, pràctics i resolutius, i potser amb cinc anys no en vaig tenir prou... Ho confesso: anyoro la vostra “can do attitude” davant qualsevol adversitat.

A la meva família, primer de tot als meus pares, per els valors i l'educació que m'heu donat i perquè sempre us he tingut a darrera amb paraules d'ànims i estimació. Molt especialment a la memòria del meu avi, per a mi model de persona treballadora, innovadora, valenta i avançada al seus temps ell és la llavor de la meva energia interior. I als pares de l'Oriol, per demostrar-me suport i recolzament en aquest i en tots els projectes i reptes personals que he volgut emprendre.

A l'Oriol, perquè junts fem que tot sigui possible. Perquè tal i com tu em vas dir un dia “la meitat d'aquesta tesi és teva i la meitat de la meva vida també”. Gràcies per ser sempre al meu costat, per estimar-me i fer-me sentir estimada. I als nostres petits, al Pau i a l'Anna, gràcies per ensenyar-me, cada dia, la felicitat.

A tots vosaltres, moltes gràcies, de tot cor.

INDEX

INDEX

INDEX	9
Índex de Taules.....	15
Índex de Figures	19
INTRODUCCIÓ BIBLIOGRÀFICA	23
1-INTRODUCCIÓ A LA TEORIA DE LES SOLUCIONS I SUSPENSIONS SÒLIDES.....	26
2-CLASSIFICACIÓ	28
2.1-Segons la seva miscibilitat (Contínues vs. Discontínues).....	28
2.2- Segons la forma en què les molècules del solvat es distribueixen en el solvent	29
3-MÈTODES DE PREPARACIÓ.....	31
3.1-Per evaporació del solvent (“Solvent Casting”).....	31
3.2-Per fusió	32
4- CARACTERITZACIÓ DE LES MOSTRES.....	35
5-FORMES FARMACÈUTIQUES DISSENYADES AMB SOLUCIONS I SUSPENSIONS SÒLIDES	36
6- LIMITACIONS I ESTAT DE LA TÈCNICA	37
OBJECTIUS	39
CAPÍTOL 1: CRIBRATGES EN PRE-FORMULACIÓ	43
1-MATERIALS I MÈTODES.....	45
1.1-Materials.....	45
1.1.1-Principi actiu	45
1.1.2-Excipients emprats en el cribratge	46
1.1.3-Reactius	58
1.2-Mètodes	60
1.2.1-Mètode 1: cribratge en premsa per fusió.....	60
1.2.2-Mètode 2: cribratge amb “Solvent Casting” miniaturitzat.....	63
1.2.3-Mètode 3: Generació de mostres a escala pilot, extrusor per fusió.....	65
1.3-Characterització de les mostres	68
1.3.1- Caracterització “ <i>in vitro</i> ”: test de dissolució	68
1.3.1.1-Films generats amb la premsa per fusió.....	68
1.3.1.2-Films generats per “solvent casting” miniaturitzat	69
1.3.1.3-Mostres generades amb l’extrusor per fusió	70
1.3.2- Caracterització “ <i>in vivo</i> ”: estudi farmacocinètic.....	70
2-RESULTATS	72
2.1- Cribratge en premsa per fusió	72
2.1.1-Prensa per fusió: excipients.....	74
2.1.2-Prensa per fusió: mostres control	74
2.1.3-Prensa per fusió: paràmetres crítics de procés	76
2.1.4-Cribratge amb un excipient (mostres al 10 % pes/pes)	81
2.1.5-Cribratge amb un excipient (mostres al 4 % pes/pes)	93
2.1.6-Cribratge amb dos excipients (mostres al 10 % pes/pes).....	99
2.2- Cribratge per “Solvent Casting” miniaturitzat	114
2.2.1-“Solvent Casting”: excipients	116
2.2.2-“Solvent Casting”: mostres control	117
2.2.3-Cribratge per “ <i>solvent casting</i> ”	117
2.2.4-Validació de candidats amb premsa per fusió.....	125
2.3-Escalat amb l’extrusor per fusió per als estudis farmacocinètics “ <i>In vivo</i> ”.....	129
3-CONCLUSIONS DELS CRIBRATGES EN PRE-FORMULACIÓ	140

3.1-Conclusions del cribratge amb la premsa per fusió.....	140
3.2-Conclusions del cribratge amb “Solvent Casting”	140
3.3-Conclusions de l’escalat amb l’extrusor per fusió i dels resultats de l’estudi “in vivo”	141
CAPITOL 2: APLICACIÓ DE SOLUCIONS I SUSPENSIONS SÒLIDES EN FORMES FARMACÈUTIQUES ORALS.....	142
1-MATERIALS I MÈTODES.....	146
1.1- Materials.....	146
1.1.1- Principi actiu	146
1.1.2- Excipients.....	146
1.2- Mètodes	152
1.2.1- Mètodes per a l’elaboració de comprimits que contenen solucions/suspensions sòlides de HPMCP:Vitamina E-TPGS.....	152
1.2.2- Mètodes per a l’elaboració de comprimits que contenen solucions/suspensions sòlides de Vitamina E-TPGS	155
1.2.3- Mètodes per a l’elaboració de comprimits que contenen solucions/suspensions sòlides de Vitamina E-TPGS en una matriu d’alliberació controlada.	160
1.3- Anàlisi i caracterització de les mostres	168
1.3.1 Riquesa i impureses	168
1.3.2 Test de dissolució	171
1.3.3 Difracció de raigs X de pols (XRDP).....	172
1.3.4 Calorimetria d’escombrat diferencial (DSC).....	173
1.3.5 Anàlisi de la cinètica d’absorció d’aigua.....	174
1.3.6 Caracterització físico-química dels comprimits	175
1.3.7 Anàlisi per HPLC de desorció del principi actiu i la Vitamina E-TPGS	175
2-RESULTATS	177
2.1- Elaboració de formes farmacèutiques amb una solució/suspensió sòlida de HPMCP: Vitamina E-TPGS	178
2.1.1- Formulació i fabricació	178
2.1.2- Anàlisi i caracterització dels comprimits	180
2.1.3- Estabilitat dels comprimits	189
2.2- Elaboració de formes farmacèutiques amb una solució/suspensió sòlida de vitamina E-TPGS.....	197
2.2.1- Estudi de la capacitat d’adsorció del Neusilin®	199
2.2.2- Estudi de desorció del principi actiu del Neusilin®.....	200
2.2.3-Formulació i fabricació	203
2.2.4- Anàlisi i caracterització dels comprimits	205
2.2.5- Estabilitat dels comprimits	212
2.3- Elaboració d’una matriu d’alliberació controlada amb una Solució/suspensió Sòlida de Vitamina E-TPGS.....	217
2.3.1- Estudi del polímer d’elecció per a elaborar comprimits d’alliberació controlada.	218
2.3.2- Estudi de l’efecte dels nivells de HPMC en la matriu retard	221
2.3.3- Estudi de l’escalat de la granulació per fusió de Vitamina E-TPGS en un granulador de laboratori.....	225
2.3.4- Formulació i fabricació dels comprimits matriu retard.....	228
2.3.5- Anàlisi i caracterització dels comprimits	229
2.3.6- Estabilitat dels comprimits	232
3-CONCLUSIONS FORMES FARMACÈUTIQUES ORALS	236

3.1-Conclusions de l'elaboració de comprimits que contenen solucions/suspensions sòlides de HPMCP:Vitamina E-TPGS	236
3.2- Conclusions de l'elaboració de comprimits que contenen solucions/suspensions sòlides de Vitamina E-TPGS	236
3.3- Conclusions de l'elaboració de comprimits que contenen solucions/suspensions sòlides de Vitamina E-TPGS, en una matriu d'alliberació controlada	237
DISCUSSIÓ.....	238
CONCLUSIONS GENERALS.....	248
BIBLIOGRAFÍA	252
GLOSSARI I ACRÒNIMS.....	264
ARTICLES.....	266

Índex de Taules

Taula 1: Excipients emprats, denominació compendial i proveïdor	46
Taula 2: Viscositats de Methocel emprades en el treball experimental	56
Taula 3: Polietilenglicols i polímers hidrofílics, paràmetres crítics de procés.....	76
Taula 4: Surfactants aniònics, paràmetres crítics de procés	77
Taula 5: Glicèrids, paràmetres crítics de procés.....	77
Taula 6: Surfactants i surfactants iònics, paràmetres crítics de procés	77
Taula 7: Polímers agents de suspensió, paràmetres crítics de procés.....	77
Taula 8: Homopolímers aniònics, paràmetres crítics de procés	78
Taula 9: Derivats cel·lulòsics, paràmetres crítics de procés.....	78
Taula 10: Polímers metacrílics, paràmetres crítics de procés.....	78
Taula 11: Cribratge amb un excipient (10 % p/p), preparatives viables	81
Taula 12: Cribratge amb un excipient (10 % p/p), resultats del test de dissolució	83
Taula 13: Cribratge amb un excipient (4 % p/p), preparatives estudiades.....	93
Taula 14: Cribratge amb un excipient (4 % p/p), resultats del test de dissolució	93
Taula 15: Cribratge amb dos excipients (10 % p/p), preparatives realitzades a la ràtio 1:1	99
Taula 16: Cribratge amb dos excipients (10 % p/p), preparatives realitzades a la ràtio 3:1	100
Taula 17: Cribratge amb dos excipients (10% p/p), paràmetres crítics de procés, mostres ràtio 1:1.....	101
Taula 18: Cribratge amb dos excipients (10 % p/p), paràmetres crítics de procés, mostres ràtio 3:1	102
Taula 19: Cribratge amb dos excipients (10 % p/p), ràtio 1:1, resultats del test de dissolució.....	103
Taula 20: Cribratge amb dos excipients (10 % p/p), ràtio 3:1, resultats del test de dissolució.....	103
Taula 21: Resum de resultats “in vitro” de les dades de “solvent casting” vs. premsa per fusió	127
Taula 22: Cribratge amb un excipient (4 % p/p), resultats del test de dissolució	130
Taula 23: Resum resultats “in vitro”, comparativa: “solvent casting”/premsa per fusió/extrusor.....	130
Taula 24: Resum dels resultats farmacocinètics de les dades en concentracions plasmàtiques de rata.....	135
Taula 25: Resum de resultats “in vitro” de les dades de “solvent casting” vs. premsa per fusió vs. “melt press” vs. biodisponibilitat absoluta.....	137
Taula 26: Excipients emprats i proveïdor.....	146
Taula 27: Detall de la composició de la solució/suspensió sòlida de HPMCP:VitaminaE-TPGS	152
Taula 28: Detall de la composició quantitativa de la formulació final.....	153
Taula 29: Detall de la composició de la solució/suspensió sòlida de VitaminaE-TPGS	158
Taula 30: Detall de la composició de la solució/suspensió sòlida de VitaminaE-TPGS adsorbida en el “carrier” porós	158
Taula 31: Detall de la composició quantitativa de la formulació final.....	159
Taula 32: Detall de la composició de la solució/suspensió sòlida de VitaminaE-TPGS	160
Taula 33: Detall de la composició de la solució/suspensió sòlida de VitaminaE-TPGS adsorbida en el “carrier” porós	161

Taula 34: Detall de la composició quantitativa de la formulació final.....	162
Taula 35: Detall de la composició percentil de la formulació final.....	162
Taula 36: Detall de la composició de la solució/suspensió sòlida de VitaminaE-TPGS	163
Taula 37: Detall de la composició de la solució/suspensió sòlida de VitaminaE-TPGS adsorbida en el “carrier” porós	164
Taula 38: Detall de la composició quantitativa de la formulació final.....	164
Taula 39: Detall de la composició percentil de la formulació final.....	165
Taula 40: Composició percentil dels nou lots realitzats	166
Taula 41: Composició percentil dels comprimits matriu retard (30 % HPMC) amb solució/suspensió sòlida activa de Vitamina E-TPGS adsorbida en Neusilin®.....	168
Taula 42: Gradient aplicat per l’anàlisi de mostres de l’estudi de velocitat de desorció	175
Taula 43: Composició quantitativa dels comprimits amb HPMCP:Vitamina E-TPGS	179
Taula 44: Resultats de la caracterització fisicoquímica dels comprimits obtinguts	180
Taula 45: Resultat de recuperació de la mostra.....	181
Taula 46: Resultats de riquesa i impureses.....	181
Taula 47: Resultats Percentatge dissolt respecte el temps de la mostra de HPMCP:VitaminaE-TPGS	182
Taula 48: Resultat de riquesa t inicial vs. un mes	190
Taula 49: Resultats comparatius de riquesa i impureses del prototip a t inicial vs. 30 dies	190
Taula 50: Resultats de l’estudi de desorció amb diversos dissolvents	200
Taula 51: Composició quantitativa dels comprimits amb solució/suspensió sòlida activa de Vitamina E-TPGS adsorbida en Neusilin®	204
Taula 52: Resultats de la caracterització fisicoquímica dels comprimits obtinguts	205
Taula 53: Resultat de riquesa de la mostra	206
Taula 54: Resultats de riquesa i impureses.....	206
Taula 55: Resultats Percentatge dissolt respecte el temps de la mostra de VitaminaE- TPGS vs. mostra control a temps inicial	208
Taula 56: Resultat de recuperació de les dues mostres candidates.....	213
Taula 57: Resultats de riquesa i impureses de les dues mostres candidates a temps 30 dies.....	213
Taula 58: Composició quantitativa dels comprimits solució/suspensió sòlida activa de Vitamina E-TPGS adsorbida en Neusilin® amb dos polímers d’alliberació controlada	219
Taula 59: Composició quantitativa dels comprimits matriu retard amb solució/suspensió sòlida activa de Vitamina E-TPGS adsorbida en Neusilin®	222
Taula 60: Resultats % dissolt respecte el temps de les mostres matriu retard de VitaminaE-TPGS amb diferents percentatges de HPMC K100LV vs. mostra control d’alliberació immediata	223
Taula 61: Descripció de les variables estudiades durant el disseny d’experiments	225
Taula 62: Composició percentil dels nou lots realitzats	226
Taula 63: Resultats de uniformitat de contingut dels lots amb principi actiu	227
Taula 64: Composició quantitativa dels comprimits matriu retard (30 % HPMC) amb solució/suspensió sòlida activa de Vitamina E-TPGS adsorbida en Neusilin®.....	228
Taula 65: Resultats de la caracterització fisicoquímica dels comprimits obtinguts	229
Taula 66: Resultat de riquesa de la mostra	230
Taula 67: Resultats de riquesa i impureses en % area del pic	232
Taula 68: Resultat de riquesa de la mostra matriu retard, temps inicial vs. 30 dies.....	233

Taula 69: Resultats de riquesa i impureses en % area del pic, comparativa a temps inicial i després de 30 dies.....	233
---	-----

Índex de Figures

Figura 1: Diagrama de composició de fases d'una mescla eutèctica	27
Figura 2: diagrama de composició de fases d'una solució sòlida discontinua	29
Figura 3: Solucions sòlides substitucionals cristal·lines.....	29
Figura 4: Solucions sòlides intersticials cristal·lines.....	30
Figura 5: Solucions sòlides amorfes.....	31
Figura 6: Diagrama d'un extrusor convencional	33
Figura 7: Premsa per fusió convencional	34
Figura 8: Diagrama del procés de preparació dels films amb la tècnica de compressió per fusió.....	61
Figura 9: Premsa hidràulica per fusió Carver, Model M25T, emprada durant el procés experimental.....	61
Figura 10: Exemples experimentals de làmines obtingudes amb la premsa "Carver"...	62
Figura 11: Tecan Genesis Freedom 200 de Tecan (Durham, NC, USA)	63
Figura 12: Placa de 96-pous, Bel-Art Products (Pequannock, NJ, USA).	63
Figura 13: Exemple de el mapa de placa emprat per fer el cribratge de les formulacions polímer/surfactant.....	64
Figura 14: Extrusor per fusió Haake Minilab.....	65
Figura 15: Extrusor Haake MiniLab, detall del doble vis-sens-fi	66
Figura 16: Exemple d'una suspensió sòlida	66
Figura 17: Exemple d'una solució sòlida	67
Figura 18: Diagrama del procés de preparació dels extrudats amb la tècnica de extrusió per fusió.....	67
Figura 19: Aparell de dissolució USP tipus VII.....	68
Figura 20: Suports de disc emprats	68
Figura 21: Flux de mostres seguit durant el cribratge emprant la premsa per fusió	73
Figura 22: Percentatge de principi actiu alliberat als 5 i 60 minuts respectivament per mostra	75
Figura 23:"Bubble Plot" de temperatures (°C) i forces (kN) emprades segons tipus d'excipient.....	79
Figura 24: Variables crítiques del procés en funció de la família d'excipient.	80
Figura 25: Figures A i B, films de DOSS i Taurocolat Na, exemples de mostres NO viables.....	82
Figura 26: Figures A i B, films de HPC SL i Gelucire 50/13, exemples de mostres viables.....	82
Figura 27: Resultats del cribratge simple amb surfactants aniònics (10 % p/p).....	84
Figura 28: Resultats del cribratge simple amb polietilenglicols (10 % p/p)	86
Figura 29: Resultats del cribratge simple amb poloxamers (10 % p/p).....	87
Figura 30: Resultats del cribratge simple amb homopolímers aniònics (10 % p/p).....	88
Figura 31: Resultats del cribratge simple amb surfactants i glicèrids (10 % p/p).....	89
Figura 32: Resultats del cribratge simple amb cel·lulòsics (10 % p/p)	90
Figura 33: Matriu global de les mostres del cribratge simple amb els resultats de percentatge d'alliberació a temps 0, 15, 30 i 60 minuts.	92
Figura 34: Resultats del cribratge simple amb Myrj's, mostres al 4 % vs. mostres al 10 %	94
Figura 35: Resultats del cribratge simple amb Gelucires, mostres al 4 % vs. mostres al 10 %.....	95
Figura 36: Resultats del cribratge simple amb Poloxamers, mostres al 4 % vs. mostres al 10 %.....	96

Figura 37: Resultats del cribratge simple amb HPC-SL, mostres al 4 % vs. mostres al 10 %.....	97
Figura 38: Resultats del cribratge simple amb HPMCP, mostres al 4 % vs. mostres al 10 %.....	97
Figura 39: Resultats del cribratge simple amb Vitamina E-TPGS, mostres al 4 % vs. mostres al 10%	98
Figura 40: Resultats del cribratge múltiple amb PEGs i Gelucires (10 % p/p).....	104
Figura 41: Resultats del cribratge múltiple amb Brij i PVP (10 % p/p).....	105
Figura 42: Resultats del cribratge múltiple amb PVP i surfactants (10 % p/p).....	106
Figura 43: Resultats del cribratge múltiple amb Myrj i Poloxamers (10 % p/p) més polímer.....	106
Figura 44: Resultats del cribratge múltiple amb Vitamina E-TPGS amb Myrj i Poloxamers (10 %)	107
Figura 45: Resultats del cribratge múltiple amb Eudragit L100 (10 % p/p)	108
Figura 46: Resultats del cribratge múltiple amb derivats cel·lulòsics (10 % p/p).....	109
Figura 47: Resultats del cribratge múltiple amb HPMCP (10 % p/p).....	110
Figura 48: Resultats del cribratge múltiple amb PVP-VA (10 % p/p)	111
Figura 49: Resum dels resultats del cribratge amb dos excipients, (10 % p/p), ràtio 1:1	112
Figura 50: Resum dels resultats del cribratge amb dos excipients, (10 % p/p), ràtio 3:1	113
Figura 51: Fluxe de mostres seguit durant el cribratge emprant el “Solvent Casting Miniaturitzat”	115
Figura 52: Resum dels resultats del cribratge per solvent casting.....	119
Figura 53: Surfactants que tenen millor resultat sols que amb combinació amb un polímer.....	122
Figura 54: Surfactants amb resultats individuals negligibles i que en mescles binàries milloren.....	124
Figura 55: Graella de les 13 mostres seleccionades per passar a premsa per fusió.....	126
Figura 56: Gràfica comparativa de diferències: “solvent casting” vs. premsa per fusió	128
Figura 57: Fluxe de mostres seguit durant l’escalat amb l’extrusor per fusió per als estudis farmacocinètics “in vivo”	129
Figura 58: Gràfica comparativa de diferències: “solvent casting”/ premsa per fusió/ extrusor	131
Figura 59: Concentracions plasmàtiques Intra Venoses.....	134
Figura 60: Concentracions plasmàtiques.....	134
Figura 61: Biodisponibilitat oral de les diferents mostres en rata (n=6)	136
Figura 62: Gràfica comparativa de diferències: “solvent casting”/ premsa per fusió/ extrusor/ BA absoluta	138
Figura 63: Procés de preparació de les mostres de l’estudi de capacitat d’adsorció....	156
Figura 64: Mi-Pro “high shear mixer granulator”.	166
Figura 65: Cromatograma de l’anàlisi del principi actiu.	169
Figura 66: Linealitat del mètode de 0.6-156 µg/mL.....	170
Figura 67: Linealitat del mètode de 12-600 µg/mL.....	171
Figura 68: Cromatograma que mostra la viabilitat del co-anàlisi del principi actiu i la Vitamina E-TPGS.....	176
Figura 69: Percentatge dissolt respecte el temps de la mostra de HPMCP:VitaminaE-TPGS	182
Figura 70: Aspecte físic dels filaments de l’extrudat per fusió de : HPMC:Vitamina E-TPGS amb principi actiu	183

Figura 71: Resultats de difracció de raigs X, mostra principi actiu pur	184
Figura 72: Resultats de difracció de raigs X, mostra de HPMCP:Vitamina E-TPGS, 3:1, 10% principi actiu.....	185
Figura 73: Resultats de DSC, mostra de HPMCP:Vitamina E-TPGS, 3:1, 10 % principi actiu, temps inicial.....	186
Figura 74: Resultats de l'estudi de absorció de la mostra de HPMCP:VitE-TPGS 3:1, 10 % principi actiu.....	188
Figura 75: Percentatge dissolt respecte el temps de la mostra de HPMCP:VitaminaE-TPGS temps inicial vs. temps un mes	191
Figura 76: Percentatge dissolt respecte el temps de la mostra de HPMCP:VitaminaE-TPGS temps inicial vs. temps un mes , dades normalitzades per % dissolt final.....	192
Figura 77: Resultats de difracció de raigs X, mostra de HPMCP:Vitamina E-TPGS, 3:1, 10 % principi actiu, temps inicial vs. temps 30 dies.....	193
Figura 78: Resultats de DSC, mostra de HPMCP:Vitamina E-TPGS, 3:1, 10 % principi actiu, temps inicial.....	194
Figura 79: Resultats DSC, HPMCP:Vitamina E-TPGS, 3:1, 10 % principi actiu, temps 30 dies.....	195
Figura 80: Resultats de l'estudi de absorció, de la mostra de HPMCP:Vitamina E-TPGS, 10 % principi actiu, temps inicial vs. 30 dies.	196
Figura 81: Mostra de Neusilin® (ràtio 2:1) pre-carregat considerat viable.	199
Figura 82: Resultats de l'estudi de desorció de principi actiu i de Vitamina E-TPGS.	202
Figura 83: Resultats de l'estudi de desorció de principi actiu i de Vitamina E-TPGS, controls	202
Figura 84: Percentatge dissolt respecte el temps de la mostra de VitE-TPGS	207
Figura 85: Resultats de difracció de raigs X, mostra de Vitamina E-TPGS, 10 % principi actiu	209
Figura 86: Resultats de difracció de raigs X, comparativa de la mostra de Vitamina E-TPGS (10 % principi actiu) vs. el principi actiu.	210
Figura 87: Resultats de l'estudi de absorció, de la mostra de Vitamina E-TPGS, 10 % principi actiu	211
Figura 88: Percentatge dissolt respecte el temps de la mostres de Vitamina E-TPGS, a temps inicial i després de 30 dies	214
Figura 89: Resultats de difracció de raigs X, mostra de Vitamina E-TPGS, 10 % principi actiu, temps inicial vs. temps 30 dies	215
Figura 90: Resultats de l'estudi de absorció, de la mostra de Vitamina E-TPGS, 10 % principi actiu, temps inicial vs. 30 dies.	216
Figura 91: Comparativa del percentatge dissolt respecte el temps de les mostres de matrius retard de VitaminaE-TPGS amb dues matrius d'alliberació controlada HPMC K100LV i Òxid de Polietilè vs. mostra control d'alliberació immediata.....	220
Figura 92: Percentatge dissolt respecte el temps de les mostres de matrius retard de VitaminaE-TPGS amb diferents percentatges de HPMC K100LV vs. mostra control d'alliberació immediata	222
Figura 93: Percentatge dissolt per fracció de temps respecte el temps de les mostres de matrius retard de VitaminaE-TPGS amb diferents percentatges de HPMC K100LV .	224
Figura 94: Uniformitat de contingut de les mostres.	227
Figura 95: Aspecte dels comprimits: matriu d'alliberació controlada d'HPMC amb Vitamina E-TPGS adsorbida en Neusilin®.....	229
Figura 96: Aspecte dels comprimits: matriu d'alliberació controlada d'HPMC amb Vitamina E-TPGS adsorbida en Neusilin® un com en el test de dissolució.....	230
Figura 97: Percentatge dissolt respecte el temps de les mostres de matrius retard de VitaminaE-TPGS, mateixa formulació, amb mides de lot escalat vs. laboratori	231

Figura 98: Percentatge dissolt respecte el temps de les mostres de matriu retard de VitaminaE-TPGS, mateixa formulació, temps inicial vs. 30 dies 234

INTRODUCCIÓ BIBLIOGRÀFICA

INTRODUCCIÓ BIBLIOGRÀFICA

En la actualitat, la gran majoria de les noves entitats químiques emergents, fruit dels estudis de les noves línies d'investigació de les companyies farmacèutiques, són molècules de Classe II (Avdeef A. et al, 2001) segons la classificació Biofarmacèutica (BCS), això és, entitats químiques amb una permeabilitat acceptable però amb una absorció molt limitada degut a la seva baixa solubilitat. Per aquest motiu, des de la primèria dels anys noranta la investigació i el desenvolupament de noves entitats químiques ha avançat de manera considerable gràcies a noves tecnologies.

L'equació de Noyes-Whitney mostra de forma clara els paràmetres que teòricament podrien ésser modificats per tal de millorar la velocitat de dissolució d'un principi actiu:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{AD(C_s - C)}{h}$$

En l'equació dC/dt representa la velocitat de dissolució, A l'àrea superficial exposada al medi de dissolució, D el coeficient de difusió del principi actiu en solució, C_s la solubilitat del principi actiu, C la concentració de principi actiu en el medi de dissolució a un determinat temps t i h el gruix de la capa de difusió. Molts són doncs els paràmetres potencials a ajustar per tal de poder millorar aquesta velocitat de dissolució, per exemple, augmentar-ne l'àrea superficial, el coeficient de difusió, o bé disminuir el gruix de la capa de difusió. Aquestes idees s'han intentat aplicar i abordar durant els darrers anys amb més o menys èxit com ara: a) amb tècniques de disminució de la mida de partícula del principi actiu, b) formació de sals, polimorfs o bé pseudopolimorfs c) complexació mitjançant l'ús de surfactants, 4) formació de pro-drogues més solubles però el seu principal problema és que cap d'elles proporciona una solució universal i totes, en una mesura o altra, tenen limitacions pràctiques.

Un dels camps on les noves tecnologies i tècniques en estudi poden resultar de gran utilitat, és en la selecció de formulacions basades en solucions i suspensions sòlides. Aquest tipus de formulacions representen un important avenç en la selecció de les molècules de Classe II (segons la BCS) com a viables en el desenvolupament farmacèutic i alhora, l'ús de les noves tecnologies permet caracteritzar-les, determinar-ne la composició, la viabilitat en termes de solubilitat i en alguns casos, fins i tot,

l'estabilitat física, crítica en un producte farmacèutic acabat. La majoria de treballs publicats fins ara en aquesta disciplina es centren en formulacions líquides o semi-sòlides (Desrosiers P. et al, 2003), (Morissette SL. et al, 2004). És per tant en el camp de les formes farmacèutiques sòlides on les solucions/suspensions sòlides tenen un gran potencial per descobrir.

Les solucions i suspensions sòlides són formulacions meta estables en les que el principi actiu es troba dissolt en forma amorfa o bé dispers en forma de partícules molt fines en un excipient que actua com a matriu. En el ben entès que aquesta solució/suspensió s'aconsegueixi a nivell molecular, la solubilitat del principi actiu es veu absolutament influenciada per la de les partícules de l'entorn (en aquest cas l'excipient matriu) i així és susceptible de millora (A.T.M. Serajuddin, 1999). La teoria de les solucions i suspensions sòlides s'explica en detall en l'apartat següent d'aquesta tesi.

És important remarcar que el terme “solució sòlida” i “suspensió sòlida” en la bibliografia s'ha emprat de forma intercanviable i alguns cops fins i tot incorrecta. De fet, una “solució sòlida” només es pot referir a molècules de principi actiu dissoltes o bé dispersades molecularment dins del polímer que actua com a matriu però on mai hi ha present cap mena de precipitació ni cristal·lització. En canvi en una “suspensió sòlida” el sistema conté de forma clara molècules en suspensió, que poden trobar-se en estat cristal·lí o bé amorf.

Per tant, una forma farmacèutica basada en una solució o suspensió sòlida, no tant sols ha d'aconseguir millorar la solubilitat del principi actiu *in vivo* sinó inhibir la seva recristal·lització en el temps (Lipinski et al, 2001).

1-INTRODUCCIÓ A LA TEORIA DE LES SOLUCIONS I SUSPENSIONS SÒLIDES

Una de les múltiples opcions per tal de millorar la solubilitat i així, la biodisponibilitat d'un principi actiu és la formulació de suspensions i solucions sòlides estables (Serajuddin ATM, 1999).

Per entendre bé les bases de les solucions i suspensions sòlides cal que ens remuntem a la definició d'una simple mescla eutèctica. Tal i com es mostra en la Figura 1, una

mescla eutèctica està formada per dos components que són completament miscibles en estat líquid però en canvi tenen una solubilitat limitada en estat sòlid.

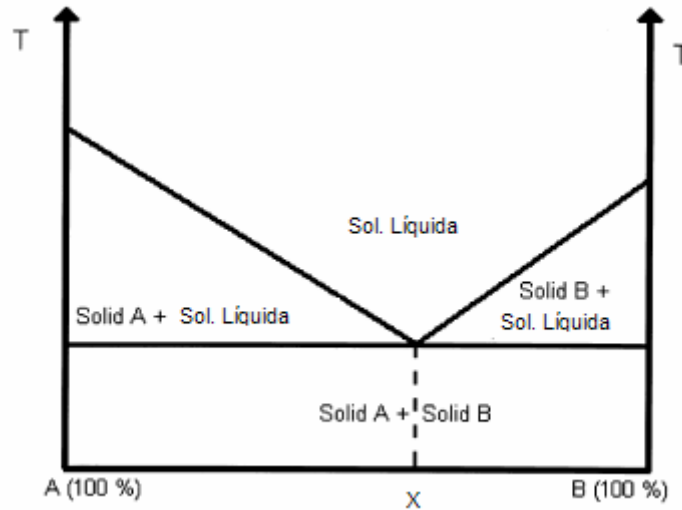


Figura 1: Diagrama de composició de fases d'una mescla eutèctica

Quan una mescla de A i B amb una determinada composició X es refreda, A i B cristal·litzen simultàniament, mentre que quan es refreden barreges amb una altra composició, un dels components comença a cristal·litzar abans que l'altre.

Les mescles eutèctiques sòlides normalment es preparen mitjançant el refredament sobtat d'una mescla dels dos components a fi efecte d'aconseguir una barreja íntima de co-cristalls molt fins d'ambdós.

Així doncs, i per aquest mateix principi, quan es té una determinada mescla d'un principi actiu poc soluble (Gardner CR et al., 2004) i un excipient inert molt soluble, amb una composició X, aquesta mescla es dissol ràpidament i permet la alliberació de fins cristalls de principi actiu, que a la vegada que milloren la seva solubilitat gràcies al vehicle, aconseguen redispersar-se amb una àrea superficial elevada. Les solucions sòlides són comparables doncs a les solucions líquides que consisteixen en una sola fase independentment del nombre de components (Avdeef A, 2001).

Per tant, una solució o una suspensió sòlida s'aconsegueix quan el principi actiu es presenta en forma de suspensió molecular englobat en un excipient o bé una mescla

d'excipients vehiculitzants. Això és molt avantatjós alhora de millorar la solubilitat del principi actiu per diverses raons: a) si el vehicle s'escull de manera acurada i té una solubilitat apropiada, s'aconsegueix millorar considerablement la higroscopicitat del principi actiu i així la seva solubilitat, doncs és la velocitat de dissolució del vehicle la que governa el paràmetre de solubilitat del medi, b) a més teòricament, quan s'aconsegueix una suspensió sòlida correcta, com que es tracta d'una mescla a nivell molecular la mida de partícula del principi actiu es redueix al màxim possible (molècules aïllades dissoltes o bé en suspensió) i c) en alguns casos, el principi actiu queda dispers en forma amorfa dins la xarxa reticular del vehicle/s i per tant és més soluble que en el seu estat cristal·lí (Goldberg AH, et al. 1965).

2-CLASSIFICACIÓ

Les solucions sòlides es poden classificar mitjançant dos mètodes (Christian Leuner, et al, 2000), segons la seva miscibilitat o bé segons la forma en que les molècules del solvat es distribueixen en el solvent:

2.1-Segons la seva miscibilitat (Contínues vs. Discontínues)

a. Solucions sòlides contínues: Aquest és el cas teòric d'una solució on els components són miscibles en totes les seves proporcions, ja que la força d'unió entre diferents components és més forta que la força intermolecular de cadascun dels components individuals.

b. Solucions sòlides discontínues: en aquest cas, la solubilitat de cada component en l'altre és limitada. Com es pot observar en la Figura 2, en el diagrama α i β mostren les regions on hi ha una solució sòlida real. En aquestes zones, un dels components sòlids es troba completament dissolt en l'altre component sòlid. Cal esmentar que per sota d'una determinada temperatura, les solubilitats de tots dos components comencen a disminuir. A efectes pràctics (Goldberg et al., 1965) varen definir que la terminologia solució sòlida només s'hauria d'emprar quan la solubilitat mútua de tots dos components és superior al 5%.

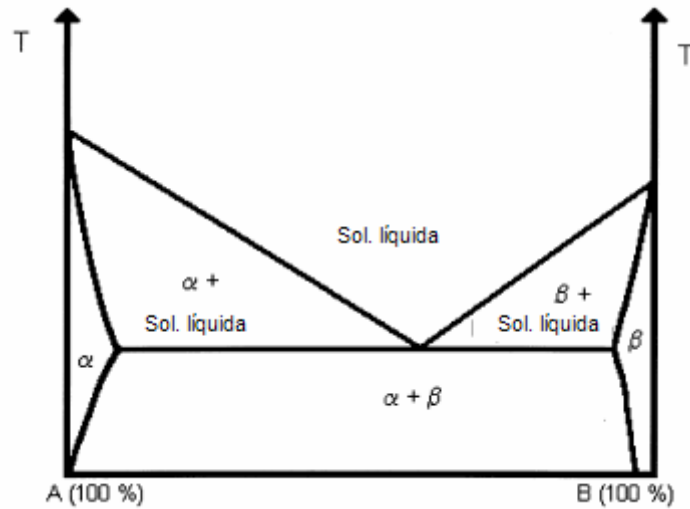


Figura 2: diagrama de composició de fases d'una solució sòlida discontinua

2.2- Segons la forma en què les molècules del solvat es distribueixen en el solvent

Segons la forma en què les molècules del solvat es distribueixen en el solvent es divideixen en constitucionals- cristal·lines, intersticials - cristal·lines o amorfes.

Solucions sòlides substitucionals cristal·lines: Aquest és el cas de les solucions sòlides amb una estructura cristal·lina clàssica, en la que les molècules de solut poden substituir molècules de solvent en l'estructura reticular o bé en l'espai intersticial entre les molècules de solvent, com es mostra en la Figura 3. La substitució només és possible quan la mida molecular de les molècules de solut difereix aproximadament en menys d'un 15 % de les molècules de solvent.

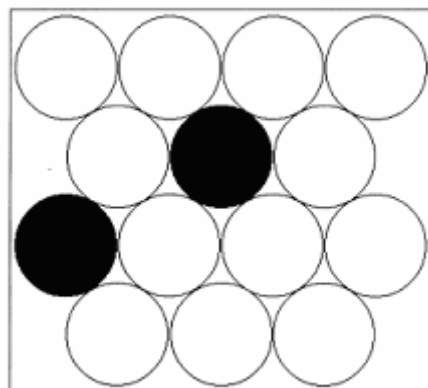


Figura 3: Solucions sòlides substitucionals cristal·lines

Solucions sòlides intersticials cristal·lines: En aquest escenari, veure Figura 4, les molècules dissoltes ocupen els espais intersticials entre les molècules de solvent i l'estructura reticular. Tal i com en el cas de les solucions sòlides substitucionals cristal·lines, la mida molecular relativa és un criteri decisiu alhora de classificar el tipus de solució sòlida. Així doncs, en el cas de les solucions sòlides intersticials cristal·lines, les molècules de solut han de tenir un diàmetre molecular inferior al 0.59 del diàmetre molecular de la molècula de solvent. A més, el volum total de les molècules de solut ha de ser de menys del 20 % de solvent.

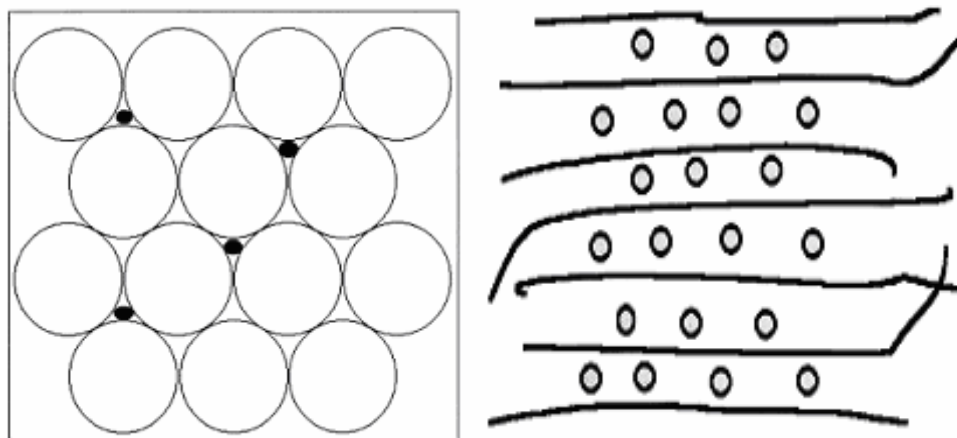


Figura 4: Solucions sòlides intersticials cristal·lines

Solucions sòlides amorfes: En les solucions sòlides amorfes, com mostra la Figura 5, les molècules de solut es troben molecularment disperses però de forma irregular dins del solvent amorf. La major part d'excipients de tipus polimèric tenen tendència a formar solucions sòlides de tipus amorf ja que, en molts casos, el propi polímer és de naturalesa amorfa. A més, les molècules de solut en aquest cas poden actuar com a plastificants, i això resultaria en la reducció de la temperatura de transició vítria del polímer.

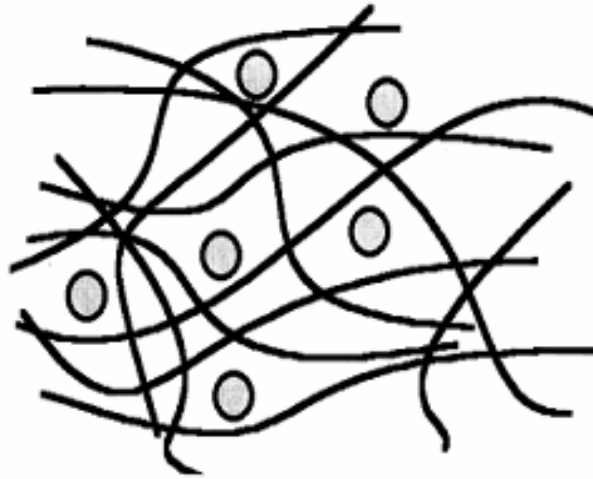


Figura 5: Solucions sòlides amorfes

3-MÈTODES DE PREPARACIÓ

Existeixen dos mètodes força comuns per tal de preparar solucions i suspensions sòlides:

3.1-Per evaporació del solvent (“Solvent Casting”)

En aquest cas, el principi actiu i el vehicle o excipient/s es dissolen en un dissolvent (normalment orgànic) comú i posteriorment aquest s’elimina per evaporació. Hi ha diverses publicacions que descriuen aquesta tècnica erròniament com a co-precipitats, doncs el terme correcte en aquestes condicions es el de co-evaporats. Existeixen diferents mètodes per evaporar el solvent: elevar la temperatura, liofilitzar o bé “*spray-drying*”. És important recordar que, quan s’evapora un solvent, petits canvis en la metodologia poden tenir conseqüències significatives en el producte final. Per altra banda, si s’empren dissolvents orgànics, és crític d’assegurar-se que s’ha evaporat absolutament tot el solvent, doncs normalment els dissolvents orgànics presenten certa toxicitat.

Val a dir que en l’actualitat existeix comercialment la formulació de Sporanox®, de Janssen Pharmaceuticals, formulada mitjançant aquesta tècnica, i que mitjançant una

suspensió sòlida de itraconazol en hidroxipropil metil cel·lulosa aconsegueix una formulació estable que millora considerablement la solubilitat d'aquest actiu.

Una altra variant d'aquest mateix mètode, consisteix en aconseguir la formació d'un material amb característiques termoplàstiques, preparat mitjançant la dissolució del principi actiu en un vehicle polimèric (com hidroxipropil metil cel·lulosa), un agent complexant (hidroxipropil β ciclodextrina) i un excipient que infereixi caràcter acídic (àcid cítric) en un dissolvent orgànic comú. Posteriorment el solvent s'evapora mitjançant buit. Aquesta mescla millora considerablement la solubilitat del principi actiu alhora que estabilitza la formulació i inhibeix la recristal·lització. El mètode per evaporació és pràctic i permet processar en solucions sòlides principis actius termolàbils o bé excipients amb punt de fusió molt elevat, tot i que, per raons ecològiques i econòmiques es continua preferint el mètode per fusió.

3.2-Per fusió

El mètode per fusió consisteix en fondre el vehicle i el principi actiu junts i així, en refredar la mescla de forma sobtada, aconseguir una solució sòlida. En els casos on només es fon el vehicle/s s'obté una suspensió sòlida. Per a formular suspensions sòlides mitjançant aquesta tècnica cal tenir en compte les següents limitacions:

- ⇒ El principi actiu i el vehicle han de ser solubles en forma fosa, per la qual cosa és molt important estudiar prèviament el diagrama de fases de la mescla i si existeixen buits de solubilitat recordar que, molt possiblement, el principi actiu no es dispersarà molecularment.
- ⇒ Una altra limitació important és l'estabilitat tèrmica del principi actiu i de l'excipient/s. Si cal treballar a temperatures molt altes és possible que el principi actiu s'evapori o bé es degradi (en alguns casos això es pot resoldre treballant en atmosferes inerts o bé sota buit).

Existeixen forces variants d'aquest mètode, però el més interessant i aplicable industrialment és el de l'extrusió per fusió, que ha arribat a la indústria farmacèutica del camp de la química polimèrica industrial. Cal mencionar que també existeixen ja

productes comercials elaborats mitjançant aquesta tècnica, com ara una formulació de verapamil (Isoptin SR-E 240, Knoll Pharmaceutical Company).

En un extrusor per fusió (Figura 6) la mescla entre el principi actiu i excipient/s es barreja mitjançant un doble vis-sens-fi (del mateix tipus que s'utilitza en la indústria polimèrica) alhora que es sotmet a altes temperatures i es fon. Un cop la mescla és homogènia es pot donar a l'extrudat forma de grànuls, micro-grànuls, pols, barretes, etc...fins i tot es poden mesclar amb excipients que en facilitin la compressió i obtenir comprimits convencionals. Val a dir que, en l'extrusió per fusió, la mescla només es troba sotmesa a elevades temperatures durant molt pocs minuts i, per tant, el risc de degradació de l'actiu és força baix.

Un extrusor convencional normalment està compost per una tremuja d'omplerta, on es col·loca la mescla de pólvores, la cambra extrusora o motlle, un vis-sens-fi i una matriu. Al voltant de l'extrusor hi ha la unitat calefactorsa i/o de refrigeració.

El diagrama d'un extrusor per fusió convencional seria el següent:

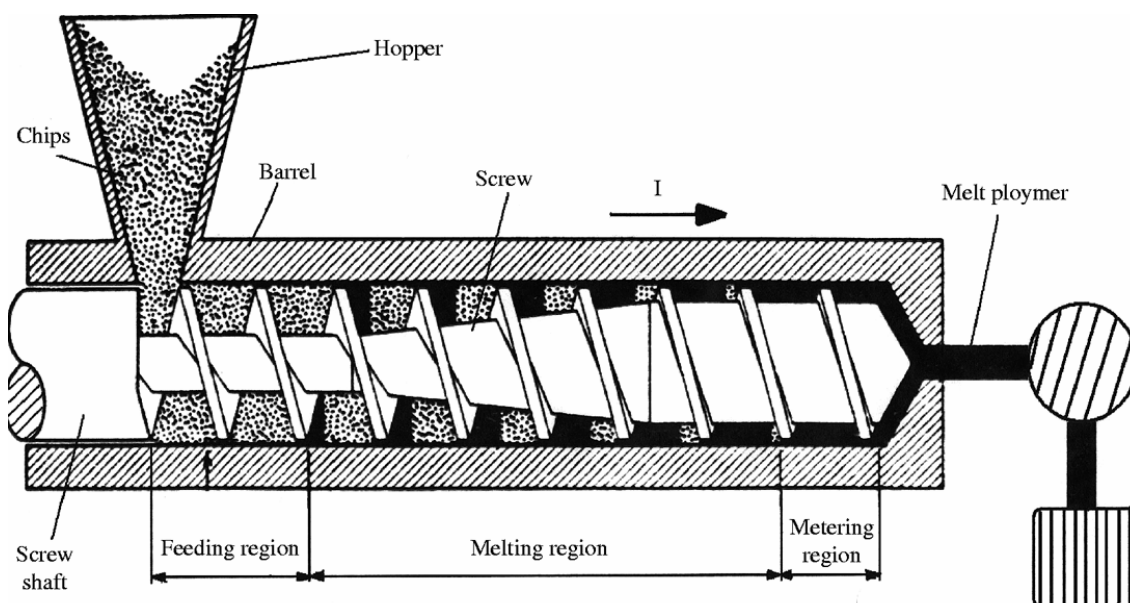


Figura 6: Diagrama d'un extrusor convencional

(Tadmor et al., 1970)

També es disposa de ganivetes o bé esferonitzadors o altres accessoris per tal de processar l'extrudat un cop fos i de monitoratges dels paràmetres crítics del procés, com

ara sondes de temperatura, velocitat del vis-sens-fi, resistència del motor, torque i sondes de pressió.

Durant el procés hi ha diferents zones de la cambra d'extrusió (motllo) que es preescalfen a temperatures específiques que s'han determinat prèviament com a òptimes per aquella mescla a processar. Un cop l'equip s'ha escalfat s'introdueix a través de la tremuja la mescla de polímers termoplàstics, que és monitorada per els sensors i parells tèrmics de dins la cambra d'extrusió. La massa molta és expulsada a través de la matriu que es troba situada va l'extrem distal del vis-sens-fi.

Amb el temps també s'han anat introduint forces variants d'aquesta tècnica, com ara la de espraïar la mescla fosa sobre una superfície freda, o bé refredar la mescla en motlles freds.

Per a mostres a més petita escala i sota el mateix principi s'utilitza la premsa per fusió (Figura 7), en aquest cas, les mescles de pols es barregen a mà, normalment amb l'ajuda d'un morter i les mostres es col·loquen entre dues plaques calefactades d'una premsa hidràulica. Un cop les plaques han assolit la temperatura pre-seleccionada les mostres es premsen, amb l'ajuda d'un motllo a una força i temps predeterminats.



Figura 7: Premsa per fusió convencional

En general aquestes premses s'han usat fins ara en tècniques de caracterització de materials però, últimament se n'està estudiant la utilitat com a potencials sistemes de selecció i cribratge de mostres que "a posteriori" s'escalen amb l'extrusor per fusió. Un cop processades les mostres es deixen reposar sobre una superfície freda, o bé refredar en motlles freds.

4- CARACTERITZACIÓ DE LES MOSTRES

Les tècniques principals emprades per a caracteritzar solucions i suspensions sòlides són, entre altres:

- ◆ Mètodes termo-analítics (DSC i TGA)
- ◆ Difracció de raigs X (XRDP)
- ◆ Espectroscòpia de IR
- ◆ Microscopi de llum polaritzada
- ◆ Test de dissolució

A banda de la caracterització físico química de la mostra, mitjançant aquestes tècniques s'aconsegueix diferenciar si s'ha assolit una suspensió o bé una solució sòlida. Normalment s'utilitza la presència o absència de cristal·linitat per a definir aquest criteri.

El test de dissolució, que és l'emprat majoritàriament en aquesta tesi (especialment en el Capítol 1, corresponent a l'etapa de cribratge) per limitacions tècniques, no és una eina que es pugui emprar per tal de discernir si s'ha aconseguit o no una solució sòlida, però és extremadament útil per tal de determinar si s'ha aconseguit millorar de forma qualitativa la solubilitat "in vitro" del principi actiu. És important, en aquests casos emprar controls en el disseny d'experiments que incloguin el principi actiu tot sol i també la mescla de tots els components presents en la formulació sense processar si es tracta d'una forma farmacèutica.

5-FORMES FARMACÈUTIQUES DISSENYADES AMB SOLUCIONS I SUSPENSIONS SÒLIDES

El mateix principi explicat fins ara es podria extrapolar doncs a una forma farmacèutica, on el principi actiu es podria doncs trobar englobat en un excipient que actués com a matriu, o bé dispersat com a partícules fines nanocristal·lines o fins i tot partícules amorfes, totes ells formades per les tècniques descrites anteriorment i la solució o suspensió sòlida aconseguida en el moment de refredar la mostra o bé d'evaporar el solvent (per les tècniques per fusió o evaporació de solvent respectivament). Com ja s'ha comentat en la secció bàsica de descripció de les solucions i les suspensions sòlides el polímer que fa de matriu és normalment hidrosoluble, com per exemple el poliòxid d'etilè, la polivinilpirrolidona o la hidroxipropil metil cel·lulosa. Actualment, en el mercat existeixen formulacions d'aquest tipus amb algunes molècules molt insolubles com ara la Griseofulvina en polietilenglicol (Gris-PEG®, Novartis), la nabilona en povidona (Cesamet®, Lilly) i l'itraconazol en una mescla de polietilenglicol i hidroxipropil metil cel·lulosa (Sporanox®, Janssen).

Quan ens ho mirem des de la perspectiva d'una forma farmacèutica acabada, cal tenir en compte que, mentre que els polímers hidrofíls poden actuar com a estabilitzants de l'estat sòlid del principi actiu, en general, tots els principis actius molt insolubles quan es troben en forma amorfa tendeixen a recristal·litzar després de ésser exposats al medi gastrointestinal (Leuner and Dressman, 2000; Serajuddin, 1999).

També és conegut que fórmules basades en suspensions preparades amb surfactants semi-sòlids, com ara Vitamina E TPGS (Shin and Kim, 2003) i Gelucire 44/14 (Soliman and Khan, 2005; Yuksel et al., 2003) tenen l'activitat potencial de facilitar la dissolució i inhibir la precipitació en el tracte gastrointestinal. Això és degut a les seves propietats solubilitzants però val a dir que típicament tenen punts de fusió força més baixos i per tant permeten un grau de mobilitat molt major de les molècules en estat sòlid que no pas els polímers. Per tant, totes les formulacions basades doncs amb aquests excipients es preveu que haurien de ésser bastant menys estables en front a la recristal·lització del compost en estat sòlid (Khoo et al., 2000). A més a més, val a dir que en general, tots els semi-sòlids són més difícils de incorporar en les formes sòlides orals. Per tant formulacions que puguin contenir ambdós punts forts: a) polímers hidro-solubles amb elevades temperatures de transició vítria i b) surfactants potents són teòricament les

millors candidates per combinar la millora de solubilitat (i potencial biodisponibilitat) i l'estabilitat a llarg termini. Recerca basada en l'addició de un 10 % de surfactants a suspensions sòlides basades en PVP i HPMC ha demostrat que aquestes combinacions poden arribar a ésser molt potents en termes de millora de solubilitat sense comprometre l'estabilitat de les formulacions (Ghebremeskel et al., 2006). Així mateix, Okonogi i Puttipipatkachorn (2006), també van descriure una millora considerable de la velocitat de dissolució de l'oflaxacina quan s'empraven suspensions sòlides basades en PEG i que contenen un 10 % de surfactant. Per tant sembla que les suspensions sòlides que combinen més d'un excipient poden potencialment trobar sinèrgies i millorar i aconseguir refinar certes formulacions amb una magnitud que sembla força superior al que es pot aconseguir quant es treballa amb un excipient sol.

6- LIMITACIONS I ESTAT DE LA TÈCNICA

La recerca publicada fins al moment però, tot i que sembla concloure de forma contundent que les formulacions de solucions i suspensions sòlides multi-component són molt més exitoses que les treballades amb excipients simples, hi ha com a comú denominador el fet que en general s'estudia un nombre limitat de formulacions en tots els casos. Donat el nombre de polímers i surfactants potencials existents el nombre de combinacions i ràtios a provar conceptualment és infinit i en fa pràcticament impossible un cribratge àgil i senzill. S'han començat a descriure també certes combinacions basades en propietats específiques de solubilitat dels polímers (Ghebremeskel et al., 2007) o bé basades amb l'HLB dels surfactants per poder limitar el número de formulacions amb les que caldria fer experimental. Tot i així, aquestes tècniques encara deixen la porta oberta a una combinació massa àmplia de potencials experiments i a més incorporen el risc que el fet de que la seva finalitat sigui disminuir el nombre d'experiments a fer es descartin potencials fórmules bones d'entrada directament.

És per tot això, que qualsevol tècnica de cribratge ràpid que permeti l'avaluació de múltiples combinacions compost/polímer/surfactant per poder identificar sinèrgies inicials i guiar posteriors estudis de formulació representa una valuosa aportació científica.

Així mateix, l'altre limitació important és la forma farmacèutica final: en molts dels casos, es descriu com a excipient majoritari o bé adjuvant ideal un surfactant o bé un lípid, amb punts de fusió normalment baixos i que es presenten, a temperatura ambient com a líquids o semi-sòlids. Aquesta és una de les barreres i limitacions en l'estudi de les solucions i suspensions sòlides si és que l'objectiu final de la forma farmacèutica requerida és un sòlid per via oral.

La majoria de treballs publicats fins ara en aquesta disciplina es centren en formulacions líquides o semi-sòlides (Desrosiers P. et al, 2003), (Morissette SL. et al, 2004). En aquest cas, aquesta tesi doctoral s'ha enfocat en l'ús d'aquests tipus de formulacions i la seva caracterització per formes farmacèutiques sòlides.

OBJECTIUS

OBJECTIUS

Aquesta tesi doctoral, fruit de la col·laboració entre varies disciplines, per tal d'aconseguir formulacions viables i millorades que continguin molècules de Classe II (segons BCS), es centra en els aspectes galènics d'aquest estudi, la metodologia emprada per destriar i caracteritzar formulacions viables, el canvi d'escala, la producció de mostres per a estudis “*in vivo*” i la transformació final de totes aquestes tasques de pre-formulació inicial en l'elaboració de formes farmacèutiques.

Els objectius específics d'aquesta tesi doctoral son els següents:

1. Estudi de la possible obtenció de solucions i suspensions sòlides a escala de laboratori, mitjançant tècniques ràpides de selecció i cribratge de formulacions emprant: la premsa per fusió i la evaporació de solvents (“solvent casting”).
2. Estudi del possible escalat i de la viabilitat d'algunes de les formulacions, fruit de la preselecció de l'objectiu 1, elaborades ja a escala pilot (amb l'extrusor per fusió).
3. Comprovació d'una potencial millora de la solubilitat i la velocitat de dissolució del principi actiu “*in vitro*” i “*in vivo*”, de les formulacions obtingudes en l'objectiu 2.
4. Preparació de formes farmacèutiques que continguin solucions o suspensions sòlides que demostrin millora de la solubilitat del principi actiu, seleccionades gràcies al cribratge ràpid posat a punt en els punts anteriors.

CAPÍTOL 1: CRIBRATGES EN PRE-FORMULACIÓ

1-MATERIALS I MÈTODES

1.1-Materials

1.1.1-Principi actiu

El principi actiu base de l'estudi, que anomenarem GC-3413 per motius de confidencialitat, és una nova entitat química (NEQ), de la família dels antagonistes selectius dels receptors cannabinoides CB1.

El primer bloquejador del receptor selectiu CB1 va ésser el Rimonabant® (Sanofi-Aventis). A Europa s'emprava principalment en pacients amb graus d'obesitat molt important, juntament amb dieta i exercici físic per a reduir pes. Malgrat la seva eficàcia, l'any 2008 l'Agència Europea de Medicaments (EMA) va suggerir la suspensió de la seva comercialització després que el Comitè de Productes Mèdics d'ús Humà concloués que els seus riscos de consum havien superat els seus beneficis potencials, principalment després d'haver detectat un augment significatiu de casos notificats de trastorns psiquiàtrics severos, depressió i increment de suïcidis. La cancel·lació de la seva aprovació de comercialització va ésser el 16 de gener del 2009.

Usant el Rimonabant com a *lead compound* algunes empreses farmacèutiques van sintetitzar i caracteritzar homòlegs estructurals i/o funcionals derivats, dels quals, el GC-3413, que s'ha emprat en aquesta tesi.

L'estructura química, fórmula i pes molecular no es mostren al complet per raons de confidencialitat. El Principi actiu GC-3413 és una pols de color blanc trencat, té un punt de fusió al voltant dels 168 °C, un pKa de 2,8 i una solubilitat de 0.0002 mg/ml a pH 2.0 i a pH 7.4.

1.1.2-Excipients emprats en el cribratge

Els excipients emprats en l'elaboració de les formulacions a petita escala i a escala pilot, juntament amb els seus proveïdors es troben resumits i agrupats per famílies en la següent taula.

Taula 1: Excipients emprats, denominació compendial i proveïdor

TIPUS	EXCIPIENT	Ph.EU ò USP	PROVEÏDOR
Polietilenglicols	PEG 1000	Macrogol	DOW
Polietilenglicols	PEG 1450	Macrogol	DOW
Polietilenglicols	PEG 4000	Macrogol	DOW
Polietilenglicols	PEG 8000	Macrogol	DOW
Surfactants aniònics	Brij 35	Macrogol Cetostearyl Eter	Aldrich
Surfactants aniònics	Brij 72	Macrogol Cetostearyl Eter	Aldrich
Surfactants aniònics	Mirj 52	Polyoxyl Stearate (USP)	Lambent
Surfactants aniònics	Poloxamer 188	Poloxamer	BASF
Surfactants aniònics	Poloxamer 237	Poloxamer	BASF
Surfactants aniònics	Poloxamer 338	Poloxamer	BASF
Surfactants aniònics	Poloxamer 407	Poloxamer	BASF
Surfactants aniònics	Precirol ATO-5	Palmitoestearat de Glicerina	Gattefossé
Surfactants aniònics	Volpo N10	Polyoxyl Oleyl Eter	Croda
Surfactants aniònics	Crodesta F110	Sucrose stearate	Croda
Surfactants aniònics	Crodesta F160	Sucrose stearate	Croda
Surfactants aniònics	Tween 80	Polisorbat 80	Sigma-Aldrich
Surfactants aniònics	Cremophor EL	Polyoxyl Castor Oil	BASF
Glicèrids	Gelucire 44/14	Macrogol glicèrids	Gattefossé
Glicèrids	Gelucire 50/13	Macrogol glicèrids	Gattefossé
Glicèrids	Vit E-TPGS	Vitamina E	Eastman
Surfactants iònics	LSS	Lauril Sulfat Sòdic	Sigma-Aldrich
Polímers de suspensió	Povidona	Povidona	ISP
Polímers de suspensió	PVP-VA	Copovidona	BASF
Homopolímers aniònics	Polyox N10	Òxid de polietilè	DOW
Homopolímers aniònics	Polyox N80	Òxid de polietilè	DOW
Derivats Cel·lulòsics	HEC	Hidroxiètil cel·lulosa	Aqualon

1-Cribratge: premsa, solvent casting i extrusor per fusió

Derivats Cel·lulòsics	HPC SL	Hidroxiopropil cel·lulosa	NIPPON
Derivats Cel·lulòsics	HPMC K100LV	Hidroxiopropilmetil cel·lulosa	DOW
Derivats Cel·lulòsics	HPMC E5	Hidroxiopropilmetil cel·lulosa	DOW
Derivats Cel·lulòsics	HPMC K15MCR	Hidroxiopropilmetil cel·lulosa	DOW
Derivats Cel·lulòsics	HPMC AS	Hidroxiopropilmetil cel·lulosa acetat succinat	Shin-Etsu
Derivats Cel·lulòsics	HPMCP 50	Hidroxiopropilmetil cel·lulosa ftalat	Shin-Etsu

Polímers Metacrílics	Eudragit® RS100	Copolímer de etil acrilat i metil metacrilat	Evonik
Polímers Metacrílics	Eudragit® L100	Copolímer de etil acrilat i metil metacrilat	Evonik

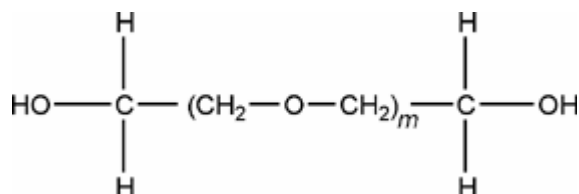
Tots aquests excipients es van seleccionar segons les seves característiques físico-químiques i mecàniques així com per la seva capacitat de ser processats via fusió per calor, compressió o extrusió.

A continuació s'inclou una breu descripció de les característiques físico-químiques, considerades crítiques per les famílies d'excipients emprades en aquest treball experimental.

Polietilenglicols

Està descrit (Miralles MJ *et al.*, 1982), que els polietilenglicols són polímers que són capaços de millorar la solubilitat en aigua o bé les característiques de dissolució de principis actius poc solubles quan s'empren en solucions/suspensions sòlides. Tots els graus de polietilenglicol són solubles en aigua i miscibles en qualsevol proporció amb altres polietilenglicols (després de fondre'ls si és necessari). Solucions aquoses de polietilenglicols d'alt pes molecular poden formar gels (que en el nostre cas afavoririen la hidratació del principi actiu de forma una mica més sostinguda en el temps), així la velocitat de dissolució de molècules solubles en aigua i formulades amb polietilenglicols disminueix quan augmenta el seu pes molecular. En el cas que ens ocupa també és important destacar que els polietilenglicols es poden usar també com a agents de suspensió o adjuvants de viscositzants i per tant, quan s'empren amb altres agents emulsificants actuen com a estabilitzants de l'emulsió.

Els polietilenglicols són un polímer d'addició entre l'òxid d'etilè i aigua. Emprats bàsicament com a solvents, plastificants i també lubricants en formes farmacèutiques



sòlides. Els graus que van del 200 fins al 600 són líquids i els superiors a 1000 són sòlids a temperatura ambient. Els emprats en aquest estudi són tots sòlids el 1000, el 1450 i el 4000 tenen textures entre pastoses i ceroses i el PEG 8000 és un pols micronitzat que flueix lliurement. Els punts de fusió dels graus emprats en aquest estudi oscil·len entre els 50 °C i els 82 °C, fet que els fa candidats acceptables per l'ús en l'extrusió per fusió, tot i que no òptims, ja que punts de fusió més pròxims als de principi actiu implicarien una millor homogeneïtzació. Es tracta generalment de productes estables a temperatura ambient i en solució tot i que els graus inferiors al 2000 són higroscòpics. En el cas del seu ús en calent, cal anar en compte de no sobrepassar els 150 °C, que sota aquestes condicions durant més d'una hora es produiria oxidació, l'enfosquiment i la formació de productes de degradació de caràcter àcid. Aquests efectes es podrien mitigar si es treballa sota atmosfera de nitrogen en cas necessari.

Surfactants aniònics

Brijs i Volpo N10

Es tracta d'alquil-eters de polioxetilè. Són surfactants aniònics usats en formulacions com a agents emulsificants i estabilitzadors de micro-emulsions. Son series d'eters de polietilenglicol de n-alcohols (lauril, oleil, miristil, cetil, etc...) preparats per condensació d'alcohols grassos lineals amb òxid d'etilè. La reacció es controla de forma que s'aconsegueix l'èter requerit amb el polietilenglicol del pes molecular desitjat. El Brij 35 és el Polioxil-23-lauril èter i el Brij 72 el Polioxil-2-esteraril èter, mentre que el Volpo N10 és el Polioxil-10-oleyl èter. La bibliografia mostra que s'han emprat com a agents solubilitzants en molts principis actius poc solubles en aigua com l'acetat de cortisona, la griseofulvina, la menadiona, (Elworthy PH, Patel MS, 1982) el chlordiazepoxide (Abdel Rahman AA *et al.*, 1991) i el colesterol (Mueller-Goymann CC and Usselman BS., 1988). També s'han estudiat dins de sistemes d'alliberació controlada que contenen oleosomes, hidrosomes,

fosfosomes, vesícules (Friberg SE *et al.*, 1998) i niosomes (Arunothayanun P *et al.*, 1999; Parthasarathi G *et al.* 1994; Tabbakhian M *et al.*, 2006).

També s'ha descrit que milloren l'absorció a través de mucoses (Sawicki W and Janicki S., 1998) i una combinació d'un agent mucolític amb un grup tiol lliure i un alquil èter de polioxietilè com a surfactant han demostrat una millora considerable en l'absorció intestinal de productes hidrofílics que s'absorbien malament. (Takatsuka S *et al.*, 2008).

Tant el Brij 35 com el 72 són molt solubles en aigua, i el seu punt de fusió es troba entre 30 i 45 °C. Per tant, són bons candidats per el cribratge del nostre principi actiu, tot i que el seu punt de fusió és força baix. Per el que fa el Volpo N10 es va emprar només en la tècnica de "solvent casting", al tractar-se d'un producte líquid.

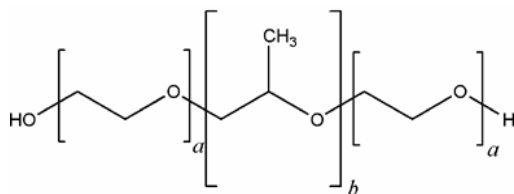
Myrj 52

Els estearats de polioxietilè i concretament el Myrj 52 (Polioxil 40 estearat), s'han emprat com a agents solubilitzants, humectants i emulsificants (Cohn I. *et al.*, 1963). La seva hidrofília depèn del nombre d'unitats d'òxid d'etilè que tinguin presents, així, com més unitats millors són les seves propietats hidrofíliques. El seu punt de fusió és baix, al voltant dels 38 °C, i el seu HLB és 16,9.

Els Myrjs d'extremada utilitat com a agents emulsificants quan tenen altres electròlits presents en l'ambient.

Poloxamers

Com a copolímers no iònics, els Poloxamers i principalment el 188 s'han emprat com a emulsificants en l'elaboració de solucions/suspensions sòlides i com a tals, recentment també s'han incorporat en sistemes d'alliberació controlada de fàrmacs (Lu G and Jun HW, 1998; Oh T *et al.*, 2004; Bochot A *et al.* 1998; Kim EK *et al.*, 2002; Anderson BC *et al.*, 2001; Moore T *et al.*; 2000). Es tracta de copolímers de polioxietilè-polioxipropilè aniònics amb propietats humectants, lubricants i solubilitzants. Degut a que una part del segment del copolímer és hidrofílic (el polioxietilè) i el polioxipropilè és hidrofòbic això li infereix grans propietats emulsificants. Tots els Poloxamers tenen una composició química semblant, que només



difereix en les quantitats relatives de grups polipropilè i òxid d'etilè i aquestes diferències són les que marquen diferents propietats físico-químiques. Els quatre graus emprats en aquest estudi són els que es presenten en forma sòlida (188, 237, 338 i 407). El punt de fusió d'aquests quatre tipus es troba entre els 50 i els 60 °C, essent suficient per treballar amb l'extrusió per fusió però força distant del punt de fusió de la nostra NEQ.

Precirol ATO-5

Es tracta d'un palmitostearat de glicerina, és una mescla de mono, di i triglicèrids de àcids grassos de 16 i 18 carbonis. Es presenta en forma de pols blanc, fi i amb una olor suau que fon al voltant dels 53 °C. És un material biodegradable que s'empra majoritàriament en formes sòlides com a lubricant (Holzer AW and Sjogren, 1981; Allen LV., 2000). Però la importància del seu ús en aquest treball experimental és el seu potencial ús descrit en formulacions de matrius d'alliberació controlada (Saraiya K and Bolton S., 1990; Bodmeier R et al, 1990) i comprimits preparats via granulació o fusió (Malamataris S *et al.*, 1991; Evrard B *et al.*, 1999), on s'ha vist que s'obtenen formulacions amb perfils de dissolució més ràpids quan s'augmenten els nivells de Precirol.

Crodestas F110 i F116

Son esters d'àcids grassos de sucrosa que constitueixen un grup de surfactants aniónics amb un ampli ventall de HLBs. Són insípidos i inodors. El Crodesta F110 és l'ester de sucrosa estearat i sucrosa diestearat, amb un HLB de 12 mentre que el Crodesta F116 és el monoester de sucrosa estearat amb una HLB de 14.5, son per tant força hidrofílics. Són estables a elevades temperatures i per contrast, formen emulsions a temperatures relativament baixes (45 °C). Tots dos es presenten en forma de pols blanca, soluble en aigua. La seva utilització en formes sòlides orals remunta en el seu ús com a adjuvants en formulacions de comprimits de disgregació ràpida, ja que faciliten la humectabilitat i la disgregació dels comprimits i també poden millorar l'estabilitat i la

biodisponibilitat d'alguns principis actius. El seu punt de fusió es troba entre els 44 i els 52 °C.

Tween 80

Els polisorbats són sèries de esters parcials d'àcids grassos de sorbitol. En concret, el polisorbat 80 és el polioxietilè 20 sorbitan monooleat. Es tracta de surfactants aniònics que són àmpliament usats en la preparació d'emulsions farmacèutiques estables. També són emprats com a solubilitzants de molècules actives, i humectants en formulacions orals i fins i tot suspensions parenterals. S'ha demostrat (Nerurkar MM *et al.*, 1999) que també són efectius com agents per millorar la biodisponibilitat oral (Zhang H *et al.*, 2003). Físicament el tween 80 es presenta com un líquid groc, de gust amargant i olor característica. Al tractar-se d'un excipient líquid es va emprar directament només en el cribratge per "solvent casting".

Cremophor EL

El Cremophor és oli de castor hidrogenat. En concret pel Cremophor EL es tracta d'un grau purificat del polyoxyl 35 castor oil. Es presenta com un oli de color groc pàl·lid, transparent a temperatures superiors als 26 °C. Al tractar-se d'un excipient líquid es va emprar directament només en el cribratge per "solvent casting". El Cremophor emulsifica de forma fàcil vitamines i olis essencials. S'empra com a agent solubilitzant en solucions aquoses de principis actius hidrofòbics (miconazol, hexetidina, clotrimazol, benzocaïna) i també està descrit que s'empra com a agent solubilitzant per la Cyclosporina A (Ran Y *et al.*, 2001), el Paclitaxel (Gelderblom H *et al.*, 2001), (Seo, M.H., *et al.*, 2003) i el Cisplatí (Gelderblom H *et al.*, 2002).

Glicèrids

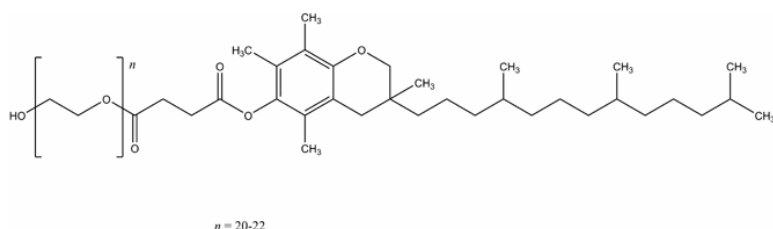
Gelucires

Sota aquesta denominació s'engloben els Macrogolglicèrids ò Polioxilglicèrids, mescles de monoesters, diesters i triesters de glicerol i monoesters i diesters de polietilenglicols (PEGs). En concret el Gelucire 44/14 (Lauryl polyoxylglycerid) i el Gelucire 50/13 (Stearyl polyoxylglycerid) són els dos tipus emprats en aquest treball experimental. Es tracta de materials semi-sòlids de caràcter amfifílic. En el camp de la tecnologia farmacèutica s'empren com a potenciadors de la dissolució, agents

emulsificants, surfactants no iònics, agents de penetració, agents solubilitzants i mecanismes d'alliberació controlada. El Gelucire 44/14 té un punt de fusió al voltant dels 44 °C i un HLB de 14 i el Gelucire 50/13 de 50 °C i un HLB de 13. (Jannin V *et al.*, 2008; Chauhan B *et al.*, 2005; Chambin O and Jannin V., 2005; Shimpi SL *et al.*, 2005).

Vitamina E-TPGS

La Vitamina E Tocoferil Polietilèn Glicol Succinat és un derivat de la Vitamina E (Tocoferol) esterificada principalment emprat com a agent solubilitzant i emulsificant, bàsicament degut a les seves propietats surfactants. Estructuralment és una molècula



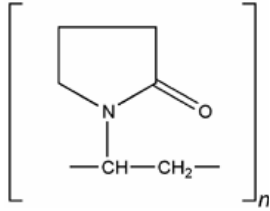
amfifàtica i hidròfila. Al contrari que els tocoferols és hidrosoluble i per tant això la fa candidata a ésser emprada en certes

tecnologies farmacèutiques com ara l'extrusió per fusió (Repka MA and McGinity JW., 2000), essent una de les seves aplicacions més importants es seu ús com a vehicle per formulacions basades en lípids que formen part de mecanismes d'alliberació de fàrmacs (Constantinides PP *et al.*, 2004). Es tracta d'un producte sintètic, que es presenta en forma de semi-sòlid de consistència cerosa/greixosa de color blanc o beix pràcticament insípid. És incompatible amb àcids forts i bases fortes.

Químicament és una mescla composta principalment de polietilenglicol 1000 monoesterificat, polietilenglicol 1000 diesterificat, polietilenglicol 1000 lliure i tocoferol lliure. És soluble en aigua, la seva concentració micel·lar crítica és del 0,02 % en pes als 37 °C i el seu HLB és al voltant de 13.

Polímers de suspensió

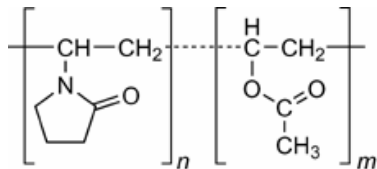
Povidona



La Povidona es presenta en forma de pols fina de color crema pràcticament inodora i higroscòpica que fon als 150 °C. Tot i que s'empra en moltes formulacions de formes sòlides com a desintegrant i en solucions aglutinants (Fikentscher H and Herrle K., 1945; Becker D *et al.*, 1997) s'ha descrit també el seu ús com a agent potenciador de solubilitat en entitats químiques de baixa solubilitat (Stubberud L *et al.*, 1996; Iwata M and Ueda H., 1996). Les seves propietats solubilitzants fan també que s'empri com a agent de suspensió, estabilitzador o viscositzant. Tot i que s'ha descrit que si s'empra en processos a temperatures superiors als 130 °C s'enfosqueix, sembla ser que no perd les seves propietats.

PVP-VA

La Copovidona és un copolímer de 1-etinilpirrolidin-2-ona i acetat d'etil en la proporció de 3:2. Es presenta com un pols de color groguenc, amorf, amb olor i gust



suau i que fon a 105 °C. S'empra principalment com a aglutinat i com a agent matricial en formulacions d'alliberació controlada ja que infereix bones propietats

d'adhesió, elasticitat i duresa. Es fabrica directament per la polímerització de radicals lliures de vinilpirrolidona i vinilacetat al ràtio de 6:4. En concret, el Kollidon VA64, que és el que s'ha emprat en aquest treball experimental, té una estructura esfèrica però amb una elevada proporció d'esferes trencades i això li infereix unes propietats duals úniques: millorar la fluïdesa de les mescles de les formulacions en les que participa i alhora, les partícules trencades són capaces de omplir forats més petits dins de l'estructura reticular de la barreja i per tant el fa un molt bon aglutinat (Kolter K, Flick D., 2000). També està descrit (Lipp R., 1998), en el seu ús en films sobretot per aplicacions transdèrmiques, que millora les propietats de fusió d'una mescla reduint-ne el punt de fusió d'alguns principis actius.

Homopolímers aniònics

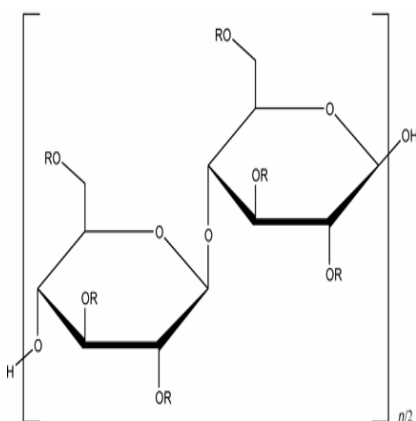
Òxid de Polietilè

L'òxid de polietilè és un homopolímer no iònic d'òxid d'etilè que pot contenir fins a un 3 % d'òxid de sílice o bé d'algun altre antioxidant. És una pols de color beix amb lleugera olor d'amoniac que fon al voltant dels 70 °C. Normalment s'empra com a aglutinant i els de pesos moleculars més elevats també s'utilitzen com a components principals en matrius hidrofíliques en formulacions d'alliberació controlada (Dhawan S *et al.*, 2005; Dhawan S *et al.*, 2005). També està descrit (Repka MA and McGinity JW., 2000; Coppens KA *et al.*, 2005) que facilita l'extrusió per fusió i per aquesta raó s'han inclòs en el cribratge.

Derivats Cel·lulòsics

HEC

Es tracta d'un polihidroxiètil èter de cel·lulosa parcialment substituït. És una pols de color blanc/grisós inodor i insípid, molt higroscòpic, amb un punt de fusió al voltant



dels 135 °C. És un polímer aniònic, soluble amb aigua i molt emprat en tecnologia farmacèutica com a agent de recobriment, agent de suspensió, aglutinant i viscositzant (Grove J *et al.*, 1990; Gauger LJ., 1984; Delonca H *et al.*, 1978; Kovács B *et al.*, 1990; Sweetman SC, 2009). També s'utilitza en matrius de tipus hidrogel com a excipient regulador de l'alliberació d'alguns principis actius (Li J and Xu Z., 2002).

R són H o $[-CH_2CH_2O-]_m$ H i on m és un nombre comú de derivats cel·lulòsics.

Fon al voltant dels 150 °C, quan està en solució l'augment de temperatura disminueix la seva viscositat.

HPC-SL

Es tracta d'un polihidropropil èter de cel·lulosa parcialment substituït. Pot contenir fins a un 0,6 % de sílice com a agent antiaglomerant i està present al mercat sota diferents graus que es caracteritzen per tenir viscositats diferents en dissolució. Es tracta d'una pols de color blanc-grogós insípid i inodor. En formes farmacèutiques orals s'empra principalment com a aglutinant (Skinner GW *et al.*, 1999), com a agent de recobriment i també com a agent formador de matrius d'alliberació controlada (Lee DY and Chen CM, 2000; Alderman DA, 1987), on la velocitat de dissolució del principi actiu augmenta quan disminueix la viscositat del polímer. En algunes ocasions s'empra en conjunt amb altres derivats cel·lulòsics per millorar les propietats físiques d'una mescla i tenir més control en l'ajust fi de l'alliberació d'un fàrmac de forma controlada (Skinner GW, 2001; Guo JH and Skinner GW, 2002; Dürig TJ, 2008). Fon al voltant de 130 °C. Com que es tracta d'un material termoplàstic es pot processar per molts mètodes de fabricació diferents i està descrit que s'empra la extrusió per fusió per fer films d'ús tòpic (Repka MA, McGinty JW, 2001).

HPMC

La HPMC (hipromel·losa) és una cel·lulosa parcialment O-metilada i O-(2-hidroxi propilada). Existeix en diferents graus que varien en viscositat i grau de substitució. La USP especifica el tipus de substitucions del polímer afegint a la denominació un nombre de quatre dígit. Els primers dos dígit corresponen al contingut en percentatge de grups metoxi i els segons dos dígit al percentatge de grups hidroxi propoxi. Les múltiples combinacions d'aquestes substitucions són les que donen lloc a diferents graus de HPMC.

Així doncs, els graus emprats en aquest treball experimental han comprès tres viscositats molt diferents:

Taula 2: Viscositats de Methocel emprades en el treball experimental

<i>Graus de HPMC</i>	<i>Designació USP</i>	<i>viscositat (mPas)</i>
<i>Methocel K100 LV</i>	2208	100
<i>Methocel K15M</i>	2208	15000
<i>Methocel E5</i>	2910	5

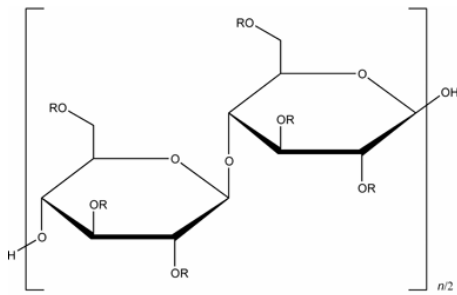
Es tracta d'un excipient soluble en aigua freda i pràcticament insoluble en aigua calenta, que fon en torn als 170 °C i altament emprat en moltes formes farmacèutiques, sobretot com a aglutinant (Chowhan ZT, 1980) i agent de recobriment (Rowe RC, 1977; Rowe RC, 1980; Banker G *et al.* 1981; Okhamafe AO and York P, 1982; Alderman DA and Schulz GJ, 1989; Patell MK, 1990) i també com a agent formador de matrius d'alliberació controlada (Hardy JG *et al.*, 1982; Hogan JE, 1989; Shah AC *et al.*, 1989; Wilson HC and Cuff GW, 1989; Dahl TC *et al.*, 1990) . Els graus de molt elevada viscositat són els més emprats en formulacions que han de controlar l'alliberació del fàrmac durant moltes hores.

HPMC AS

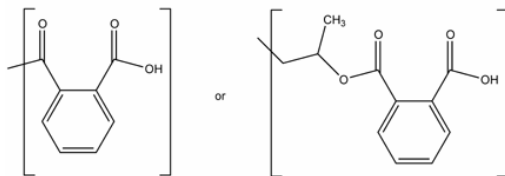
L'acetat succinat de hipromel·losa és una mescla d'àcid acètic i de esters d'àcid mono succínic de hidroxipropil metil cel·lulosa. Es presenta en forma de pols o grànuls de color blanc o blanc trencat amb una olor feble d'àcid acètic que pràcticament és imperceptible al gust. Fon als 180 °C i la seva temperatura de transició vítria és als 113 °C.

És molt emprat en formes farmacèutiques orals sobretot com a agent de recobriment entèric (Hilton AK and Deasy PB, 1993; Streubel A *et al.*, 2000; Tezuka Y *et al.*, 1991). Quan s'empra en solucions i suspensions sòlides és un agent potenciador de la solubilitat. És insoluble en fluids gàstrics però un cop és a l'intestí prim s'infla i es desfà de forma molt ràpida. També s'usa, en combinació amb altres polímers o aglutinants s'empra en la preparació de formulacions d'alliberació controlada pH-dependents. Les suspensions de principis actius poc solubles en HPMC AS es preparen, normalment per tècniques de evaporació de solvent o bé d'extrusió per fusió (Jeong YI *et al.* , 2001; Nakamichi K, 1994; Miyajima M *et al.*, 1989; Takeichi Y *et al.*, 1990).

HPMC P



R = H, CH₃, CH₂CH(OH)CH₃.



La hidroxipropil metil cel·lulosa ftalat és una cel·lulosa en la que alguns dels seus grups hidroxil s'han substituït amb grups metil- èter, 2-hidroxipropil èter o esters de ftalil. Es presenta en forma de pols, grànuls i flocs de color blanc. Fa una olor molt lleugera d'àcid i és insípid. Té un punt de fusió proper als 150 °C.

S'empra principalment, en formulacions galèniques com a agent de recobriment entèric (Ehrhardt L *et al.*, 1973; Delporte

JP and Jaminet F., 1976; Patt L and Hartmann V., 1976; Stafford JW., 1982; Thoma K *et al.*, 1987), ja que és insoluble en fluids gàstrics però es dissol ràpid quan arriba a l'intestí prim. També s'usa, en combinació amb altres polímers o aglutinants s'empra en la preparació de formulacions d'alliberació controlada pH-dependents. També s'ha descrit que (Takada K *et al.*, 1989) la HPMCP s'ha emprat en forma de co-precipitat en molècules molt insolubles per millorar les seves característiques de dissolució.

Polímers Metacrílics

EUDRAGIT

L'Eudragit és un copolímer sintètic d'àcid metacrílic i etil acrilat. En concret els graus utilitzats en aquest treball experimental corresponen al RS i al L100. L'Eudragit RS és parcialment permeable a l'aigua i normalment s'utilitza en formes farmacèutiques com a recobriments per aconseguir alliberacions retardades. La seva solubilitat és independent del pH del medi. Es presenta en forma de grànuls de color blanc opac. L'Eudragit L100 conté un 97 % del seu pes en polímer sec, s'empra normalment per inferir propietats entèriques als recobriments i la seva solubilitat és pH dependent, soluble a pH superiors a 5.5.

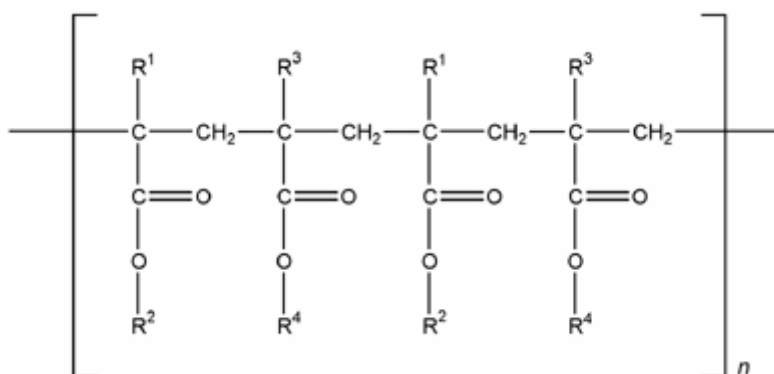
EUDRAGIT RS100

R1 = H, CH3

R2 = CH3, C2H5

R3 = CH3

R4 = CH2CH2N(CH3)3 +Cl-



EUDRAGIT L 100

R1, R3 = H, CH3 , R2 = H, R4 = CH3, C2H5

1.1.3-Reactius

Tots els **reactius** emprats en l'estudi: Acetona, Etanol i n-propanol provenen de JT Baker and Co. i son qualitat HPLC. Per als tests de dissolució, el medi intestinal artificial va ésser preparat segons USP29/NF 24S1, utilitzant fosfat potàssic monobàsic, i es va ajustar a pH $6.8 \pm 0,1$ amb hidròxid sòdic ò àcid clorhídric.

1.2-Mètodes

1.2.1-Mètode 1: cribratge en premsa per fusió

La tècnica de preparació de les làmines va ser la següent (Figura 8):

Es va preparar, una mescla geomètrica d'aproximadament 500 mg d'excipient (ò excipients totals en el cas de les mescles binàries). Aquesta mescla es va col·locar en un marc d'acer inoxidable (~10 cm), entre dues làmines de plàstic cobertor de poliestirè siliconat per una cara (fabricat per 3M), amb les cares siliconades en contacte amb el producte.

Posteriorment, aquesta mostra es va transferir a una premsa hidràulica Carver, Model M25T (Figura 9). Per al procés de compressió es varen emprar els paràmetres identificats prèviament, utilitzant formulacions “placebo” per cada mescla.

Per al procés de compressió, com a paràmetre orientatiu de treball es va emprar el següent principi: de la bibliografia (Ghebremeskel et al, 2006) s'extreu que aquest procés de fabricació comprèn una temperatura òptima de treball de la mostra d'uns 20 °C per sobre del punt de fusió de l'excipient, tot i verificant que aquesta temperatura no sobrepassi els 210 °C, doncs dades experimentals obtingudes mitjançant anàlisi termo-gravimètrica del principi actiu GC-3413 indiquen una possible degradació a aquesta temperatura.

Un cop comprimides, les mostres es van deixar refredar, a temperatura ambient, durant 24 hores, per tal de minimitzar qualsevol tipus de estrés que pogués afectar el seu comportament o integritat física.

Després de la fase de refredament, les mostres es van preparar per igualar-ne la superfície. Es van tallar seccions de 2.5 cm de diàmetre amb un punxó d'acer inoxidable i es van obtenir films, que pesaven al voltant de uns 100 mg amb un contingut de NEQ del 10 %.

Els films obtinguts es van separar de les cobertes de plàstic de poliestirè siliconat mitjançant un bisturí, en aquest cas, si les mostres obtingudes eren sòlides es separaven amb facilitat. En el cas de mostres que estaven preparades amb excipients semi-sòlids es va optar per separar només una cara del plàstic de poliestirè i deixar l'altra com a suport físic del film.

Figura 8: Diagrama del procés de preparació dels films amb la tècnica de compressió per fusió.

El diagrama mostra els cinc passos corresponents al procés de preparació de films mitjançant la compressió per fusió: 1) la mescla geomètrica manual dels excipients mitjançant un morter. 2) La col·locació de la pols resultant entre làmines de poliestirè siliconat en un marc d'acer inoxidable. 3) La fase de premsat, sota condicions de Força (kN), Temps (segons) i Temperatura (°C) prèviament definits. 4) El repòs de les mostres en superfícies fredes (marbre), a temperatura ambient durant 24 hores, i 5) La preparació de seccions de igual superfície per totes les mostres tallades mitjançant un motllo.

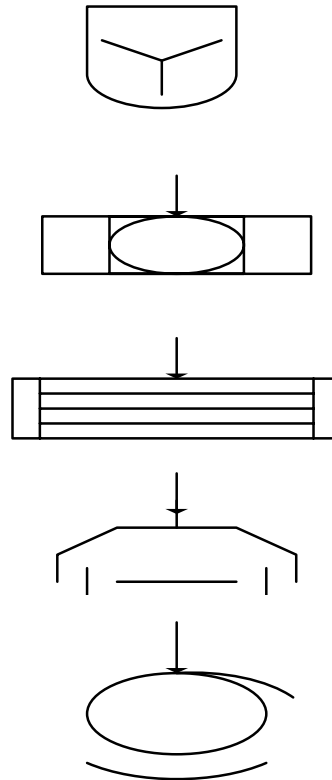


Figura 9: Premsa hidràulica per fusió Carver, Model M25T, emprada durant el procés experimental.

La foto mostra la premsa emprada, un tipus de premses estàndard a nivell de laboratori per la seva versatilitat. Aquest tipus de premses s'utilitzen fonamentalment en recerca de materials, durant etapes de caracterització de propietats físiques.

En general van caldre forces de l'ordre de 11 kN, temps de residència de 30 segons i temperatures de aproximadament 20 °C per sobre del punt de fusió de l'excipient emprat en la formulació.

Així, es varen aconseguir làmines acceptables, com s'observa en les fotografies adjuntes (Figura 10).



Figura 10: Exemples experimentals de làmines obtingudes amb la premsa “Carver”.
La figura A mostra un film de HPMC mentre que la figura B és un exemple d'un Gelucire 50/13

Per evitar que els resultats estessin esbiaixats per possibles problemes d'estabilitat de la mostra ò inclús per possibles canvis polimòrfics de la NEQ totes les mostres es van analitzar després de 24 hores de la seva preparació.

1.2.2-Mètode 2: cribratge amb “Solvent Casting” miniaturitzat

Per les mostres analitzades per “solvent casting”, es van emprar la majoria dels excipients descrits en l’apartat de la premsa per fusió i s’hi van incloure, en alguns casos excipients amb punts de fusió molt baixos amb els que era poc viable preparar mostres amb la premsa per fusió.

Durant la fase experimental, totes les operacions en les que hi va intervenir una



manipulació de líquids es van fer mitjançant el sistema de manipulació de líquids Tecan Genesis Freedom 200 de Tecan (Figura 11) (Durham, NC, USA), i emprant puntes d’un sol ús de tipus Tecan. Les formulacions es van preparar, diluir i incubar en plaques de 96-pous (Figura 12) (Bel-Art Products (Pequannock, NJ,

USA).

Figura 11: Tecan Genesis Freedom 200 de Tecan (Durham, NC, USA)

La figura mostra el robot emprat durant el cribratge d’alt rendiment per “solvent casting” miniaturitzat. L’equip incorpora un sistema de manipulació automatitzada de líquids provat i fiable per a diferents escales i rendiments. Amb l’elecció de les diverses quantitats de líquids/reactius gràcies a la manipulació mitjançant braços robòtics proporciona una àrea de treball extensible i configuracions variables.

Les solucions mare d’excipient i principi actiu es van preparar amb una mescla



d’acetona:etanol (1:1). Aquesta barreja de solvents es va triar perquè era la mescla que dissolia el ventall més ampli de polímers del nostre interès.

Figura 12: Placa de 96-pous, Bel-Art Products (Pequannock, NJ, USA).

La figura mostra les plaques emprades en la fase experimental robotitzada, poc comú en la galènica tradicional. Es tracta d’una placa plana amb múltiples “pous” utilitzats com petits tubs d’assaig. La microplaca s’ha convertit en una eina estàndard en la investigació analítica. Cada vaset d’una microplaca pot encabir típicament d’entre desenes de nanolitres a diversos mil·lilitres de líquid.

Les solucions mare d'excipients simples es van preparar a concentracions de 2 mg/ml, mentre que la solució mare de principi actiu es va preparar a una concentració de 0,2 mg/ml. Per tal de preparar les mostres polímer/excipient, es va programar el sistema de dispensació de líquids per tal de dosificar de forma precisa 225 µl de solució mare del polímer, 75 µl de solució mare de surfactant i 300 µl de solució mare de principi actiu a cada pou, corresponent a un ràtio final excipient:principi actiu 10:1. Les formulacions que només tenien un polímer o bé un surfactant, en combinació amb el principi actiu, es van preparar emprant 300 µl de la solució mare simple de l'excipient i 300 µl de la solució mare de principi actiu. Per tant, per totes les formulacions estudiades, la quantitat d'excipient per pou va ésser de 0,6 mg, i la quantitat de principi actiu per pou de 60 µg. De cada formulació se'n van realitzar tres replicats, que es van preparar en pous consecutius. Un exemple d'un mapa de pous d'aquesta fase experimental es pot veure en la figura 13.

	Sense Polímer			Polímer 1			Polímer 2			Polímer 3		
Surfactant 1												
Surfactant 2												
Surfactant 3												
Surfactant 4												
Surfactant 5												
Surfactant 6												
Surfactant 7												
Surfactant 8												

Figura 13: Exemple de el mapa de placa emprat per fer el cribratge de les formulacions polímer/surfactant.

Corresponent, en aquest cas a les formulacions de només surfactant (single screening), totes les formulacions de cada placa es van preparar per triplicat en la mateixa placa. Les columnes 1-3 contenen només surfactant i només principi actiu, mentre que la resta de pous conte, polímer, surfactant i principi actiu. La quantitat total d'excipient per pou és de 0,6 mg per totes les fórmules, i el ràtio polímer surfactant, per totes les fórmules, és 3:1.

Al dispensar les mostres en cada placa, es van passar per el vòrtex per assegurar una barreja homogènia entre les solucions mare i després es va procedir a l'evaporació del solvent mitjançant d'ús d'una centrífuga de buit Genvac® HT-4X equipada amb una bomba de buit tipus Genvac© CVP-100 (Genvac, Suffolk, UK). La velocitat del rotor que es va emprar era de 1300 rpm, la temperatura de 40 °C, i la consigna de pressió de 5 psi. El pas de centrifugació es va fer sota temperatura controlada per evitar que el solvent es refredés amb excés durant l'evaporació. Sota aquestes condicions de treball, la gran majoria del solvent es va evaporar amb una hora i mitja, i el temps total del cicle

va ésser de dues hores i mitja. Al final del cicle d'evaporació, cada micro-punta del pou contenia un petit pellet o un petit film de formulació, d'un pes total de 0,66 mg. Les plaques es van sellar amb paper de film i es va deixar reposar, a temperatura ambient, fins l'endemà abans de procedir al seu anàlisi per test de dissolució. Això es va fer per tal de donar, a les formulacions més inestables, temps de començar a recristal·litzar i així detectar millor les mostres més prometedores a llarg termini. Així mateix, es podrien haver emprat temps d'espera més llargs i condicions d'emmagatzematge més severes per forçar aquest fenomen i intentar predir comportaments d'estabilitat a llarg termini, com a part del procés de selecció de formulacions.

1.2.3-Mètode 3: Generació de mostres a escala pilot, extrusor per fusió

Després d'analitzar les dades procedents del cribratge a petita escala, les formulacions



amb més probabilitat d'èxit en termes de: a) millors resultats de millora de solubilitat, b) viabilitat de procés i c) estabilitat de la mostra, es van preparar a escala pilot (x100) per a una millor caracterització.

Amb la finalitat de preparar lots d'uns 10 g aproximadament es va emprar un extrusor per fusió del tipus HAAKE PolyLab (Figura 14) amb doble vis-sens-*fi* (Figura 15) de Thermo Electron Corporation. En les mostres preparades el ràtio polímer:surfactant:principi

actiu va ésser 75:25:10.

Figura 14: Extrusor per fusió Haake Minilab.

El micro mesclador Haake minilab de Thermo Scientific és ideal per a la extrusió reactiva controlada amb precisió d'alta viscositat: Treballa temperatures de fins a 350 °C i només requereix una quantitat de mostra de 5 g de o 7 cm³. Minimitzant així el dispendi en materials cars o facilitant la experimental a petita escala. Alhora, les propietats reològiques es pot emmagatzemar per tal de documentar els canvis estructurals. Mitjançant l'ús de la força té un alimentador que fa que l' extrusió continua amb fluxos de volum molt petits sigui possible.

Primerament i per determinar les condicions de treball sense gastar principi actiu es varen preparar mostres placebo, inicialment amb els excipients individuals i posteriorment amb les combinacions binàries. Així es varen determinar els paràmetres crítics de procés per cada mostra.

L'extrusor Haake MiniLab es capaç de treballar en continu i el seu escalat a mides superiors, industrials i semi-industrials, és senzill. A més va permetre emprar temperatures de treball molt semblants a la premsa per fusió, cosa que garantia l'estabilitat i consistència física del producte final.



Figura 15: Extrusor Haake MiniLab, detall del doble vis-sens-fi

Com es pot veure de la figura el sistema es basa en una cambra cònica, que conté el mesclador amb doble vis-sens-fi amb un canal de flux de retorn integrat. Gràcies a aquest canal i a una vàlvula de derivació, el temps de residència de la mostra així com la seva recirculació està perfectament definit. Integrats al canal de retorn de flux hi ha dos transductors de pressió que permeten la mesura (relativa) de la viscositat del producte fos. Aquest equip pot fer girar els vis-sens-fi en co-rotació o en contra rotació i també està equipat amb un sistema d'injecció de gas inert.

La velocitat emprada en l'extrusor va ser, en totes les formulacions, de 100 rpm (contínues) i les mostres es van recircular durant uns 10 minuts aproximadament, per tal d'aconseguir mescles homogènies. L'aparell està equipat amb un sensor de Torque, indicador de la viscositat de la mostra. Així, quan el paràmetre s'estabilitza en un valor constant s'assumeix la seva homogeneïtat.



Figura 16: Exemple d'una suspensió sòlida

La figura mostra l'aspecte d'una suspensió sòlida amb aspecte clarament opac degut a la suspensió de partícules, tal i com surt de l'extrusor per fusió.

Figura 17: Exemple d'una solució sòlida

Com a contrast amb la figura 16, la figura 17 mostra l'aspecte d'una solució sòlida amb aspecte clarament translúcid degut a la solubilització de partícules, tal i com surt de l'extrusor per fusió.



En aquest cas es va emprar, en la sortida de l'extrusor una matriu standard d'uns 2 mm de diàmetre. Tal i com mostren les imatges les mostres obtingudes degut a la seva composició i depenent de si s'ha aconseguit

obtenir una solució o una suspensió sòlida tenen aparença i característiques físico-químiques molt diferents (Figures 16 i 17).

Després de deixar reposar les mostres a temperatura ambient durant uns 30 min, cada mostra es va passar per un molí, durant menys d'un minut, i la pols obtinguda es va passar per un tamís per minimitzar diferències en la distribució granulomètrica i evitar així mides de partícula massa grans (Figura 18).

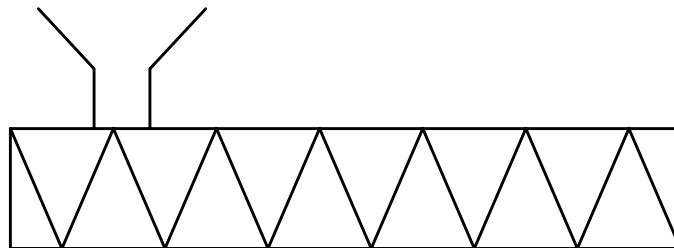
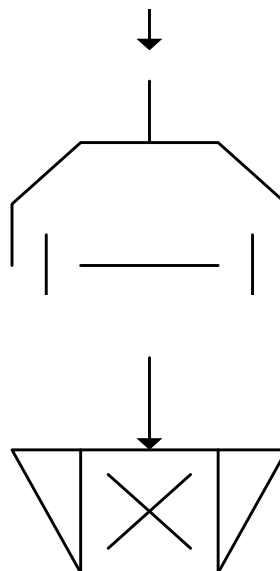


Figura 18: Diagrama del procés de preparació dels extrudats amb la tècnica de extrusió per fusió

La figura mostra la preparació de films mitjançant l'extrusió per fusió: la barreja pre-mesclada, es processa en l'extrusor per fusió i, tal com surt (amb l'aspecte de característics "fideus" es deixa reposar 30 minuts a temperatura ambient sobre una superfície freda (marbre). Posteriorment, el producte resultant es passa per un molí per tal d'igualar la mida de partícula de la mostra, per evitar que aquest factor influeixi en el cribratge de formulacions.



1.3-Characterització de les mostres

1.3.1- Caracterització “*in vitro*”: test de dissolució

1.3.1.1-Films generats amb la premsa per fusió

Totes les mostres es van analitzar per a determinar-ne la seva velocitat de dissolució. Val a dir que, al tractar-se de formulacions a emprar per a fer una selecció inicial, no es va considerar emprar mètodes estàndard descrits en les farmacopees per a avaluar formes farmacèutiques d'ús oral, ben al contrari, es van centrar els esforços en dissenyar un mètode que fos capaç de discriminar entre les nostres formulacions (Nicolaidis et al. , 2001).



Figura 19: Aparell de dissolució USP tipus VII

La figura mostra una foto de l'aparell de dissolució tipus 7. Introduït originalment en la USP com a alternativa per a tests de petit volum ha esdevingut el mètode de referència per pegats transdèrmics i emprant alguns suports addicionals també s'utilitza com alternativa per altres sistemes com bombes osmòtiques, i altres sistemes de baixa dosi.

Per això, per analitzar les làmines es va emprar un aparell de dissolució USP tipus VII (Figura 19), típic de pegats transdèrmics (Karande P et al. 2002), lleugerament modificat, en el que es van col·locar suports de disc. En cada suport de disc s'hi va fixar (mitjançant una malla de plàstic) una làmina problema (Figura 20).



Figura 20: Suports de disc emprats

La figura mostra els suports emprats: es tracta de un vidre de rellotge de borosilicat amb una malla units per clips. En el cas de les nostres mostres es col·locaven entre el vidre i la malla i s'analitzaven en el test de dissolució.

El medi de dissolució emprat va ser Fluid Intestinal Simulat (FIS), 200 ml a 37 °C. A temps inicial i posteriorment als 5, 15, 30 i 60 minuts, es van treure alíquotes de 1 ml,

centrifugar per separar possibles sòlids en suspensió i es va analitzar el sobrenedant mitjançant HPLC equipat amb detector de UV. La columna emprada era una Thermo Hypersil BDS C18, 50x4,6 mm, 5 µm i la fase mòbil 50 mM format d'amoniac (pH 3,3):Acetonitril (40:60 v/v). El flux era de 1,5 ml/min. La temperatura de la columna es va mantenir a 35 °C i el principi actiu es va detectar a 260 nm, utilitzant el detector UV.

Per les formulacions control, la mostra es va col·locar manualment dins una càpsula de gelatina (Torpac Inc, NJ, USA) i posteriorment es va seguir el mateix mètode descrit anteriorment.

1.3.1.2-Films generats per “solvent casting” miniaturitzat

Per avaluar el test de dissolució del film o pellet de mostra obtinguda en la placa de 96-pous, es va procedir a afegir 300 µl de Fluid Intestinal simulat (pH 6,8) a cada pou i es va col·locar la placa en un mesclador orbital, per assegurar la uniformitat de les mostres, durant 1 hora a temperatura ambient. El contingut de cada pou es va transferir a una placa de filtre de membrana de PVDF de 0,2 µm (Corning NY, USA), les mostres es van fer passar per el filtre mitjançant buit i el filtrat es va recollir en plaques col·lectores de filtrat (Varian, Inc., Palo Alto, CA, USA). Llavors es van transferir 150 µl de filtrat en una placa “deep-well” de Varian i el contingut es va mesclar amb 150 µl de n-propanol pipetejant diverses vegades. En aquest pas, la dilució del filtrat amb n-propanol evita la reprecipitació del principi actiu en aquest punt i abans de l'anàlisi i a més elimina qualsevol terbolesa residual degut a partícules o agregats fins que pugui tenir la mostra i en facilita el pas per el filtre. Aquest últim punt és crític, ja que l'anàlisi quantitatiu de concentració de principi actiu es fa per absorció UV, i per tant és imprescindible eliminar qualsevol possible font de dispersió de la llum, que interferiria en la mesura analítica.

En aquest punt, 200 µl del filtrat diluït es van transferir a una placa de mesura de UV (Corning, NY, USA) per procedir a l'anàlisi immediat. Es va mesurar la densitat òptica a 320 nm emprant un equip del tipus Spectramax amb una placa lectora 386 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA). Aquesta longitud d'ona es va triar després d'examinar amb cura l'espectre UV de tots els excipients que podien tenir una absorció per UV significativa a 320 nm i es va veure que no interferien i era un punt d'absorció forta per

part del principi actiu. El blanc de la densitat òptica deguda a la possible absorbància de la placa i de la mescla tampó/propanol es va determinar en un experiment que es va fer per separat i, els valors de densitat òptica es van corregir restant-ne aquesta absorbància. Finalment, els valors d'absorbància es van convertir en concentració de principi actiu en µg/ml, mitjançant una recta de calibració. Per el procediment explicat anteriorment, prèviament s'havia demostrat una correlació excel·lent ($r^2 > 0,998$) entre les mostres d'aquest compost avaluades per mètodes de UV i per HPLC (Mansky et al., 2007), que s'havia preparat mitjançant mostres comuns, filtrades i analitzades per ambdós mètodes. Així doncs, per la rapidesa, practicitat i preu del UV, totes aquestes mostres es van analitzar per UV però es va considerar que podien comparar-se amb resultats de HPLC.

1.3.1.3-Mostres generades amb l'extrusor per fusió

Les mostres procedents de l'extrusor per fusió, un cop molturades es van analitzar en les següents condicions: La pols molturada es va col·locar dins de càpsules de gelatina dura i posteriorment es van col·locar en un aparell de dissolució USP tipus VII. El medi de dissolució emprat va ser Fluid Intestinal Simulat, 200 ml a 37 °C. A temps inicial i posteriorment als 5, 15, 30 i 60 minuts, es van treure alíquotes de 1 ml, centrifugar per separar possibles sòlids en suspensió i es va analitzar el sobrenedant mitjançant HPLC equipat amb detector de UV. La columna emprada era una Thermo Hypersil BDS C18, 50x4,6 mm, 5 µm i la fase mòbil 50 mM format d'amoniac (pH 3,3):Acetonitril (40:60 v/v). El flux era de 1,5 ml/min. La temperatura de la columna es va mantenir a 35 °C i el principi actiu es va detectar a 260 nm, utilitzant el detector UV.

1.3.2- Caracterització “*in vivo*”: estudi farmacocinètic

Per la caracterització “*in vivo*” de les mostres seleccionades en el cribratge inicial es va realitzar un estudi farmacocinètic en rates mascle Sprague-Dawley (n=6 per grup). Les rates, que pesaven entre 350-400 g (proveïdor: Charles River Laboratories (Hollister, CA)), es van mantenir en dejú durant 12 hores i se'ls hi va proporcionar aigua *ad libitum*. Cada animal va rebre un 3 % de isofluorà inhalat com a anestèsia immediata prèvia a la dosificació. Les formulacions amb les suspensions sòlides es van

administrar a la dosi de 3 mg/kg en una o bé dues càpsules del número 9 (Torpac Inc, NJ, USA) emprant una agulla modificada del número 14. Després de l'administració de les càpsules es van administrar dos cents microlitres d'aigua amb xeringa via oral. Els animals es varen recuperar al cap de 5 minuts de la seva dosificació.

Un dels grups va rebre principi actiu cristal·lí, administrat en les mateixes condicions que les formulacions de suspensions sòlides com a “control negatiu” o pitjor cas possible (la menor solubilitat). Per tal de determinar la biodisponibilitat absoluta, es va administrar una formulació intravenosa consistent en etanol:solutol:principi actiu (48:48:4, p/p), que es va diluir en solució salina abans d'injectar per tal d'obtenir una concentració del compost de 2 mg/ml que es va administrar a la dosi de 2 mg/kg.

Es varen realitzar extraccions de sang, emprant xeringues heparinitzades als temps 0, 0,5, 1, 2, 4, 6 i 8 hores. El plasma es va transferir a crio-vials i posteriorment, passant per gel sec, es va emmagatzemar a -80 °C fins que se'n va realitzar l'anàlisi. Posteriorment, 100 µl de cada mostra de plasma es van transferir a tubs de centrífuga de 2 ml i s'hi van afegir 500 µl de solució standard de principi actiu (1 mg/ml solució d'acetonitril).

Els tubs es van passar per el vòrtex durant 4 minuts i es van centrifugar a 14000 rpms durant 5 minuts. Posteriorment, 500 µl del sobrenedant es van transferir a una placa de 96-pous i es va injectar una alíquota de 10 µl a un sistema API 4000 LC/MS/MS. La columna emprada va ésser una MetaChem Polaris, 3 µm C18-A 100 mm x 3,0 mm i les fases mòbils eren 10 mM en aigua desionitzada i acetonitril. Es va emprar un gradient per establir una velocitat de flux de 0,42 ml/min. La temperatura de la columna es va mantenir a 22 °C. L'efluent es va detectar emprant un espectròmetre de masses d'Applied Biosistems API 4000. La font de temperatura es va fixar a 550 °C i el voltatge del “ion spray” era de 5500 V. El sistema es va activar amb el mode MRM (múltiple reaction-monitoring mode). La concentració del principi actiu es va calcular emprant anàlisi de regressió lineal de les àrees respecte la corba standard. El rang de calibració emprat va ser de 1-1000 ng/ml i el límit de quantificació més baix va ser de 1 ng/ml. A partir d'aquí es van poder determinar els paràmetres C_{max} , T_{max} , $AUC_{(0-8 h)}$, i biodisponibilitat absoluta. L'àrea sota la corba de 0 a 8 hores es va calcular emprant el mètode de trapezoides lineal.

AVÍS IMPORTANT

El text d'aquesta secció ha estat retirat seguint instruccions de l'autora de la tesi, en existir participació d'empreses, existir conveni de confidencialitat o existeix la possibilitat de generar patents

AVISO IMPORTANTE

El texto de esta sección ha sido retirado siguiendo instrucciones de la autora, al existir participación de empresas, convenio de confidencialidad o la posibilidad de generar patentes.

IMPORTANT NOTICE

The text of this section has been withdrawn on the instructions of the author, as there is participation of undertakings, confidentiality agreement or the ability to generate patent

3-CONCLUSIONS DELS CRIBRATGES EN PRE-FORMULACIÓ

3.1-Conclusions del cribratge amb la premsa per fusió

- ⇒ La tècnica de cribratge amb premsa per fusió és capaç de discriminar les formulacions que milloren la solubilitat del principi actiu, tot i que és tediós, manual, i només permet provar un número limitat de fórmules.
- ⇒ Els resultats més prometedors del cribratge amb un sol excipient es van obtenir de dos grups de materials:
 - Surfactants i potenciadors de la solubilitat en general
 - Derivats cel·lulòsics
- ⇒ La dilució de les mostres millora el resultat de solubilització del principi actiu, tot i que en alguns casos els resultats mostraren indicis de re-precipitació en les cinètiques.
- ⇒ En l'estudi combinatori els millors resultats van obtenir-se amb combinacions de polímers com derivats cel·lulòsics i de PVP-VA amb Vitamina E-TPGS, possiblement gràcies a la seva capacitat emulsificant.

3.2-Conclusions del cribratge amb “Solvent Casting”

- ⇒ Es va aconseguir desenvolupar una nova tècnica per fer cribratge ràpid d'alt rendiment i avaluar possibles solucions/suspensions sòlides viables amb anàlisi mitjançant test de dissolució.
- ⇒ El mètode miniaturitzat va ésser especialment útil per el test ràpid de formulacions binàries emprant poc temps, recursos i poca quantitat de principi actiu.
- ⇒ El mètode miniaturitzat va ésser capaç de detectar qualitativament solucions i suspensions sòlides fruit de mescleres sinèrgiques que “a priori” no s'haurien predit.
- ⇒ Les formulacions considerades més bones eren de dos tipus:
 - les que el seu poder depenia del poder del surfactant emprat, on el més prometedor va ser Vit E-TPGS
 - les que van demostrar un clar efecte sinèrgic entre el polímer emprat i el surfactant, sobretot HPMCP i PVP-VA.

⇒ Tot i que la metodologia del cribratge ràpid té clars aspectes a millorar, les dades avaluades suggereixen que pot ésser un mètode potencialment útil en els primers estadis de pre-formulació per fer bateries de molts excipients i les seves combinacions per trobar combinacions de formulacions que resultin en solucions/suspensions sòlides.

3.3-Conclusions de l'escalat amb l'extrusor per fusió i dels resultats de l'estudi "in vivo"

⇒ L'avaluació de la biodisponibilitat in vivo de les formulacions més prometedores va demostrar que la tècnica de cribratge ràpid va ésser capaç de predir formulacions que milloraven la biodisponibilitat (20-40 %) respecte el principi actiu.

⇒ La comparativa dels sistemes de screening i la seva validació amb els resultats "in vivo" suggereix que totes tres tècniques són vàlides per un screening qualitatiu inicial i per tant l'ús d'un mètode o un altre vindria més limitat per la necessitat de estudiar molts o pocs excipients.

⇒ Les sis mostres testades "in vivo" van presentar una clara millora de biodisponibilitat respecte el principi actiu, i per tant es valida el concepte de les solucions/suspensions sòlides així com tres tècniques diferents de preparació (premsa per fusió, solvent casting in extrusió per fusió).

**CAPITOL 2: APLICACIÓ DE SOLUCIONS I
SUSPENSIONS SÒLIDES EN FORMES
FARMACÈUTIQUES ORALS**

La majoria de noves entitats químiques que provenen de nous programes de discovery són lipofíliques i amb molt poca solubilitat en medi aquós. En el cas de compostos administrats per via oral, les que tenen una permeabilitat en el tracte gastrointestinal alta però en canvi poca solubilitat en medi aquós s'anomenen compostos de classe II segons la classificació biofarmacèutica. Segons aquesta definició per aquests compostos el factor limitant per la seva utilització en medicaments doncs és la seva velocitat de dissolució.

Com s'ha vist en el capítol 1, una de les possibles solucions emprades en el camp de la tecnologia farmacèutica és mitjançant la creació de solucions i suspensions sòlides. On, el principi actiu esdevé mesclat íntimament a nivell molecular dins una matriu hidròfila, i a més, en alguns d'aquests casos també s'aconsegueix que el principi actiu passi de estat cristal·lí a amorf. Llavors, un cop tenim el principi actiu en forma de solució/suspensió sòlida la velocitat de dissolució del compost depèn principalment de les propietats de l'excipient que fa de matriu.

L'estudi de formulacions bàsiques d'alliberació immediata es va centrar en els resultats del cribratge del Capítol 1. Després de l'estudi exhaustiu, un cop demostrada la viabilitat de les formulacions candidates es van utilitzar per l'elaboració de formes farmacèutiques orals.

Aquest capítol plasma la viabilitat de les solucions/suspensions sòlides escollides i en demostra l'aplicabilitat en la fabricació de formes farmacèutiques.

En el cas que ens ocupa: el tractament de l'obesitat i de la seva població diana (pacients adults obesos, incloent els diabètics tipus II), la forma farmacèutica hauria d'ésser un comprimit. La dosi terapèutica s'ha estimat en animals al voltant d'uns 5-10 mg dos cops al dia (pendent encara dels estudis de identificació de rang de dosi terapèutica).

Aquests formulacions candidates es varen escollir basant-nos en els següents criteris:

- a) D'una banda es va mirar que els resultats obtinguts tant *in-vitro* com *in-vivo* milloressin considerablement el percentatge de principi actiu dissolt respecte al principi actiu pur.
- b) També es va considerar la simplicitat de la formulació i, per tant, es van considerar tant els resultats del cribratge amb excipients simples com les mescles binàries.
- c) Finalment, del cribratge binari es van buscar quines de les combinacions havien tingut no només bon resultat quantitatiu sinó estabilitat física i per tant una bona combinació de polímer:surfactant 3:1

Fruit d'aquesta selecció es va seleccionar les millors solucions/suspensions sòlides candidates a procedir en la seva vehiculització dins d'un comprimit eren per les combinacions binàries i la simple, respectivament:

- ⇒ HPMCP:Vitamina E-TPGS (3:1)
- ⇒ Vitamina E-TPGS

1-MATERIALS I MÈTODES

1.1- Materials

1.1.1- Principi actiu

El principi actiu emprat en aquest capítol el mateix que el mencionat en el capítol 1, una nova entitat química, de la família dels antagonistes selectius dels receptors cannabinoides CB1. A efectes de formulació és important destacar-ne que té un punt de fusió al voltant dels 168 °C, un pKa de 2,8 i una solubilitat de 0,0002 mg/ml a pH 2,0 i a pH 7,4, tal i com ja es descriu en el Capítol 1.

A nivell farmacocinètic, els estudis inicials en gossos indiquen que després de l'administració de dosis de 1, 10 ò 50 mg/kg del producte l'exposició creix de forma dosi proporcional, l'absorció és ràpida i els valors de t_{max} oscil·len entre 0,75 i 1,50 hores. L'eliminació és lenta i els valors de vida mitja s'acosten a les 24-36 hores.

1.1.2- Excipients

Els excipients emprats en l'elaboració de les formulacions, juntament amb els seus proveïdors es troben resumits en la següent taula.

Taula 26: Excipients emprats i proveïdor

EXCIPIENT	PROVEÏDOR
Vit E-TPGS	Eastman
HPMCP 50	Shin-Etsu
Lactosa	Roquette America
Cel·lulosa microcristalina	FMC BioPolymer
Starch 1500	Colorcon USA
Crospovidona	ISP
Estearat magnèsic	Parchem
Neusilin® US2	Fuji Chemicals
HPMC K100LV	DOW
Òxid de Polietilè	DOW

Tots aquests excipients es van seleccionar segons les seves característiques físico-químiques i mecàniques així com per la seva capacitat de ser processats per compressió directa.

A continuació s'inclou una breu descripció de les característiques físico-químiques, considerades crítiques per els excipients emprats.

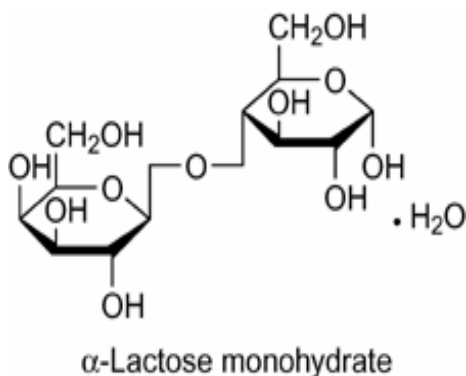
Vitamina E-TPGS

La Vitamina E-TPGS és un derivat de la Vitamina E esterificada principalment emprat com a agent solubilitzant i emulsificant, bàsicament degut a les seves propietats surfactants. És hidrosoluble i per tant això la fa candidata a ésser emprada en la extrusió per fusió, com es descriu àmpliament en el Capítol 1 és el millor candidat del cribratge simple realitzat per determinar excipients que millorin la solubilitat del principi actiu seleccionat. La seva descripció més detallada es troba en el Capítol 1 (Secció 1.1.2)

HPMCP

La hidroxipropil metil cel·lulosa ftalat i les seves propietats es troben descrites en el Capítol 1 (Secció 1.1.2). S'empra principalment, en formulacions galèniques com a agent de recobriment entèric, ja que és insoluble en fluids gàstrics però es dissol ràpid quan arriba a l'intestí prim. Les seves propietats físiques la fan favorable com a candidat en la formulació emprat l'extrusió per fusió. Els estudis del Capítol 1 mostren que, entre els derivats cel·lulòsics és un dels millors candidats del cribratge binari, combinat amb VitaminaE –TPGS.

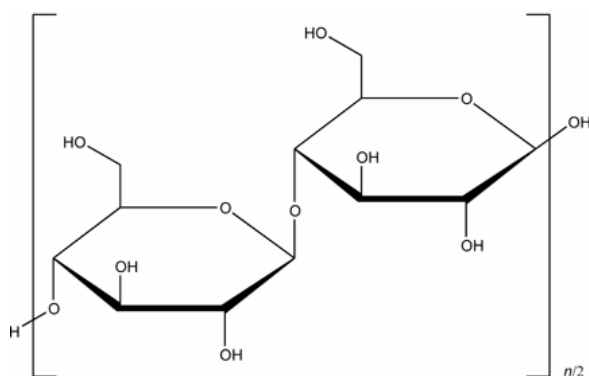
Lactosa



La lactosa monohíbrid és un disacàrid natural, que s'obté de la llet. Es tracta d'una pols blanca, cristal·lina, inodora i lleugerament dolça. En estat sòlid pot tenir diferents isòmers, depenent de les condicions de cristal·lització. Les formes estables cristal·lines de lactosa són: α-lactosa monohydrate, β-lactosa anhidra, i α-lactosa anhidra.

Es tracta d'un excipient àmpliament usat com a diluent en càpsules i comprimits i fins hi tot en preparacions per inhalació. Al mercat s'hi poden trobar disponibles múltiples lactoses amb diferents propietats físiques per el que fa mida de partícula i característiques de fluxe, fet que permet poder trobar amb facilitat les que més s'adeqüen a la nostra necessitat per formular, normalment els graus més fins s'empren per l'elaboració de comprimits per granulació humida. Per compressió directa s'empren graus específics que són extremadament útil per comprimits amb dosi baixes. Es tracta d'un excipient inclòs en la llista GRAS, inclòs en la llista de ingredients inactius de la FDA i de declaració obligatòria en alguns països.

Cel·lulosa Microcristal·lina



aplicacions a les que es vulgui destinar.

La cel·lulosa microcristal·lina és una pols blanca, inodora i insípida. Es presenta en estat cristal·lí i en forma de partícules poroses. Comercialment està disponible en diversos graus de mida de partícula, continguts d'aigua i per tant es pot adaptar segons les necessitats i

S'empra com a adsorbent, agent de suspensió, de compressió, diluent en càpsules i desintegrant se comprimits. En el nostre cas, i en la majoria d'aplicacions en comprimits s'empra com a diluent i aglutinant en processos de compressió directa. A més de posseir molt bones propietats com a diluent també té certs propietats lubricants i disgregants que són útils en els processos de compressió. Es tracta d'un excipient inclòs en la llista GRAS i també en la llista de ingredients inactius de la FDA.

Starch 1500

El midó o Starch 1500 és una pols de color blanc trencat, insípid i inodor. Consisteix en petits grànuls esfèrics o bé de forma ovoide característics depenent de l'espècie botànica de la que s'obtenen. Està format per branques d'amilosa i amilopectina, dos polisacàrids provinents de la glucosa. Els dos polímers s'estructuren de forma semi-cristalina, i en el grànul de midó l'amilopectina forma la fracció

crystal·lina. Així, configuracions diferents de les dues molècules resulten en comportaments diferents en solucions aquoses. S'empra en processos de compressió com a diluent, desintegrant, aglutinant i agent espessant.

Crospovidona

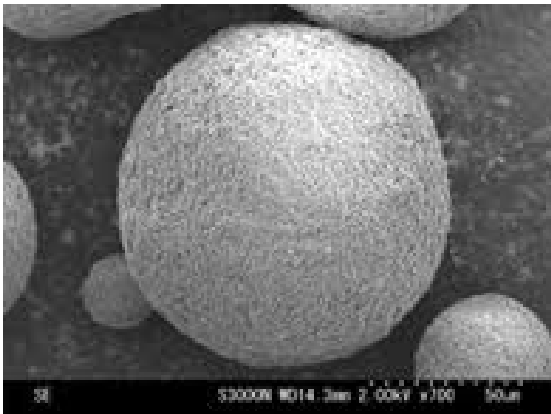
La Crospovidona és un homopolímer sintètic de la N-vinil-2-pirrolidona. S'empra principalment com a disgregant en comprimits a concentracions del 2 al 5 %. Degut a la seva elevada capacitat de hidratació, per capil·laritat facilita que el comprimit es mulli i així en promou la desintegració. També té certa tendència a formar gels.

Estearat Magnèsic

L'estearat magnèsic és una pols molt fina, blanca, que s'obté per precipitació o bé molturació i dona fruit a unes partícules pràcticament impalpables, de densitat molt baixa, d'un gust característic i un cert olor a àcid esteàric. Té textura greixosa i s'enganxa a la pell amb facilitat. Es tracta d'una barreja de sòlids orgànics àcids que principalment consten de proporcions variables de estearat de magnesi i de palmitat de magnesi obtingut de fonts d'origen vegetal. S'empra com a lubricant en processos de compressió i encapsulat. Es tracta d'un excipient inclòs en la llista GRAS i també en la llista de ingredients inactius de la FDA.

Neusilin®

El Neusilin® US2 és una pols en forma de grànul, ultrafí, de magnesi alumino metasilicat. S'usa en formes farmacèutiques i, entre altres una de les seves qualitats ve deguda a la gran superfície dels seus porus. El Neusilin US2 adsorbeix grans quantitats d'aigua o bé d'olis i pot ésser posteriorment comprimit de forma mecànica en comprimits de característiques correctes. En concret, el Neusilin® emprat en aquest treball experimental és el proveït per Fuji, que és de característiques de pH neutre.



El complexe està compost per una xarxa de tres capes de alumini octaèdric i dues làmines de sílica tetraèdriques. L'alumini està substituït en diferents graus per magnesi,

i altres elements addicionals que el complexa pot contenir, en petites quantitats poden ser ferro, liti, titani, calci i carboni. Es tracta d'un excipient segur i llistat a la USP i a la farmacopea Japonesa.

Òxid de polietilè

L'òxid de polietilè és un polímer no iònic, soluble en aigua, amb bones propietats lubricants, adhesives i de formació de pel·lícula. El polímer, emprat com a agent "retard" té la capacitat de retardar la velocitat d'alliberació d'un principi actiu i per tant és àmpliament utilitzats en les formulacions farmacèutiques d'alliberament controlat, granulació per fusió i en formes de dosificació autoadhesives. En funció del seu pes molecular hi ha disponibles al mercat diversos graus d'òxid de polietilè. Els seus mecanismes d'alliberació del fàrmac es basen en les propietats d'inflament i d'erosió del polímer. Es presenta en forma de pols, blanc, hidrofílic i cristal·lí.

HPMC K100 LV

La HPMC (hipromel·losa) és una cel·lulosa parcialment O-metilada i O-(2-hidroxipropilada). Existeix en diferents graus que varien en viscositat i grau de substitució. En aquest cas s'ha emprat la K100 LV, de baixa viscositat (100 mPas).

Es tracta d'un excipient soluble en aigua freda i pràcticament insoluble en aigua calenta, que fon en torn als 170 °C i altament emprat en moltes formes farmacèutiques, com a aglutinant, agent de recobriments i sobretot com a agent formador de matrius d'alliberació controlada, com en el nostre cas específic. Depenent de la seva viscositat se n'usen diferents percentatges (2-60 %) per aconseguir diferents perfils d'alliberació modificada. Es tracta d'un excipient inclòs en la llista GRAS i també en la llista de ingredients inactius de la FDA.

1.2- Mètodes

1.2.1- Mètodes per a l'elaboració de comprimits que contenen solucions/suspensions sòlides de HPMCP:Vitamina E-TPGS

1.2.1.1- Elaboració de la solució/Suspensió sòlida de HME de HPMCP:Vitamina E-TPGS 3:1

Per tal de preparar la mostra de solució/suspensió sòlida de HPMCP:Vitamina E-TPGS 3:1 amb 10 % de principi actiu es va emprar el següent mètode:

Es van preparar lots de 100 g aproximadament, mitjançant l'extrusor per fusió HAAKE PolyLab amb doble vis-sens-fi de Thermo Electron Corporation. Les condicions de treball utilitzades van ser les que s'havien determinat durant l'escalat de les mostres de cribratge del capítol 1(secció 2.1.3).

La taula 27 mostra la composició detallada de la solució/suspensió sòlida elaborada mentre que a la taula 28 s'indica la composició quantitativa de la forma farmacèutica final (comprimet) així com les quantitats necessàries per la seva elaboració.

Taula 27: Detall de la composició de la solució/suspensió sòlida de HPMCP:VitaminaE-TPGS

Components	g/barreja	%
Vitamina E-TPGS	22,5	22,5
HPMCP	67,5	67,5
Principi Actiu	10,0	10,0
TOTAL	100,0	100,0

Taula 28: Detall de la composició quantitativa de la formulació final

Components	g/barreja	%
Solució/Suspensió Sòlida HPMCP:VitE-TPGS:Actiu	20,0	40,0
Lactosa	14,5	29,0
Cel·lulosa Microcristal·lina	8,5	17,0
Starch 1500	4	8,0
Crospovidona	2,5	5,0
Estearat Magnèsic	0,5	1,0
TOTAL	50,0	100,0

Primerament es van mesclar, amb un barrejador rotatiu Rulon® 67,5 g de HPMCP amb 22,5 g de Vitamina E-TPGS, pesat en petites escates, es van mesclar durant 30 minuts a 25 rpm. Posteriorment a la barreja s'hi va afegir 10 g de principi actiu i la mescla final es va deixar mesclant durant 15 minuts més a 25 rpms. Per la natura de la mida de partícula dels tres components no es pretenia obtenir una mescla homogènia sinó un granel comú per alimentar l'extrusor per una sola tolva (que és com està equipat aquest model de laboratori). Val a dir que el propi extrusor està equipat amb un sensor de viscositat que detecta homogeneïtat de la mostra, per tant aquest objectiu s'assoleix més endavant en el procés.

Un cop es va tenir la barreja dels tres components de la solució/suspensió sòlida en el granel, la mostra es va carregar a l'extrusor prèviament escalfat a 180 °C. La velocitat emprada del vis-sens-fi va ser de 100 rpm (contínues) i la mostra es va recircular durant uns 10 minuts aproximadament, per tal d'aconseguir homogeneïtat. Quan el sensor de Torque de l'aparell va indicar una lectura estable es va assumir la homogeneïtat de la mostra.

La matriu de sortida que es va utilitzar era de 2 mm de diàmetre. L'extrudat obtingut tenia aparença grogosa, transparent i vítria. Els filaments extrudats es van deixar reposar a temperatura ambient durant 30 min.

1.2.1.2-MOLTURAT de HPMCP:Vitamina E-TPGS 3:1

Un cop la mostra es va refredar es va procedir a la seva trituració mitjançant un molí (picadora Hamilton Beach), durant 1 minut, i la pols obtinguda es va passar per un tamís de 1 mm per minimitzar diferències en distribució granulomètrica i evitar així mides de partícula massa grans. El producte molturat obtingut després de tamitzar pesava 97,3 g.

1.2.1.3-BARREJA de HPMCP:Vitamina E-TPGS 3:1

Dels 97.3 g obtinguts després de l'etapa de molturació se'n va separar una mostra per realitzar la caracterització analítica (per facilitar la caracterització de la mostra per XRPD), i es va continuar el procés amb la mescla dels altres excipients de compressió, tots ells prèviament tamitzats per una malla de 1 mm.

Primerament es van barrejar 20 g de la solució/suspensió sòlida activa (HPMCP:VitaminaE-TPGS:API) amb 7 g de Lactosa, 4 g de Starch 1500 i 2,5 g de Crospovidona en un mesclador Rulon® a 50 rpm durant 5 minuts, posteriorment s'hi va afegir 7,5 g de Lactosa i 8,5 g de cel·lulosa microcristal·lina i es van mesclar a 50 rpm durant 10 minuts més. Finalment es va afegir 0,5 g de Estearat magnèsic, agent lubricant, i es van mesclar durant 1 minut a 50 rpm per obtenir la mescla final per comprimir.

1.2.1.4-COMPRESSIÓ de HPMCP:Vitamina E-TPGS 3:1

La barreja tamitzada es va emprar per preparar comprimits de 250 mg de pes, 8 mm de diàmetre i 3.5 mm d'alçada, en una premsa hidràulica Carver emprant 2.5 kN de força de compressió.

1.2.2- Mètodes per a l'elaboració de comprimits que contenen solucions/suspensions sòlides de Vitamina E-TPGS

1.2.2.1-Estudis d' adsorció/desorció

Per tal d'estudiar la capacitat d'adsorció/desorció de l'adsorbent es van realitzar els següents estudis:

- a) Es va estudiar la capacitat d'adsorció dels components de la solució/suspensió sòlida de l'adsorbent
 - a. Amb mostres placebo
 - b. Amb principi actiu
- b) Es va estudiar la capacitat de desorció dels components de la solució/suspensió sòlida de l'adsorbent.

A continuació es detallen els mètodes emprats per aquests estudis.

1.2.2.2- Preparació de mostres per l'estudi de la capacitat d'adsorció del Neusilin®

a) Mostres Placebo

Primerament es va procedir a preparar una mostra placebo amb Vitamina E-TPGS. El procediment a seguir va ésser el següent:

Es varen fondre 100 g de Vitamina E-TPGS a 80 °C amb l'ajuda d'una placa calefactors i un agitador magnètic. Paral·lelament, es va pre-escalfar la pols de Neusilin®, en una altra placa calefactors també a 80 °C.

Es varen explorar ràtios de 1:1, 2:1, 3:1 i 4:1 (pes/pes) de excipient fos:Neusilin®.

Per explorar els quatre ràtios es va procedir a pesar fraccions de 1 g de Vitamina E-TPGS i a 1g, exactament pesat, de Neusilin® pre-escalfat s'hi va afegir 1 g de Vitamina E-TPGS calenta. La mostra es va agitar enèrgicament amb una espàtula sobre una placa calefactors a 80 °C i posteriorment es va traspasar a sobre d'una superfície a temperatura ambient sense deixar d'agitar (veure Figura 63). Es va seguir agitant fins que es va aconseguir una pols que fluïa lliurement i que no tenia cap mena de residu líquid.

Per el ràtio 2:1, Un cop la mostra 1:1 es va veure homogènia es va repetir l'experiment i un cop la mostra era mesclada i encara calenta es va procedir a afegir un altre gram de Vitamina E-TPGS (a 80 °C), sobre el substrat que ja contenia la primera fracció i es va continuar agitant fins a aconseguir una pols que fluïa i que no tenia cap mena de residu líquid.

Per la preparació del ràtio 3:1, Un cop la mostra 2:1 es va veure ben mesclada es va repetir l'experiment exactament igual fins a l'obtenció de la mostra 2:1 en calent i un cop la mostra era homogènia però i encara calenta es va procedir a afegir un altre gram de Vitamina E-TPGS (a 80 °C), sobre el substrat que ja contenia la fracció 2:1 i es va continuar agitant fins a aconseguir una pols que fluïa i que no tenia cap mena de residu líquid.

En el següent increment, ràtio 4:1, quan la mostra 3:1 es va veure suficientment mesclada es va repetir l'experiment exactament igual fins a l'obtenció de la mostra 3:1 en calent i un cop la mostra era homogènia però i encara calenta es va procedir a afegir un altre gram de Vitamina E-TPGS (a 80 °C), sobre el substrat que ja contenia la fracció 3:1 i es va continuar agitant. Com s'explica en detall en l'apartat de resultats l'experiment es va finalitzar en aquest punt.

De cada mostra i fracció individual se'n van anotar els pesos exactes per determinar amb precisió la capacitat d'adsorció.

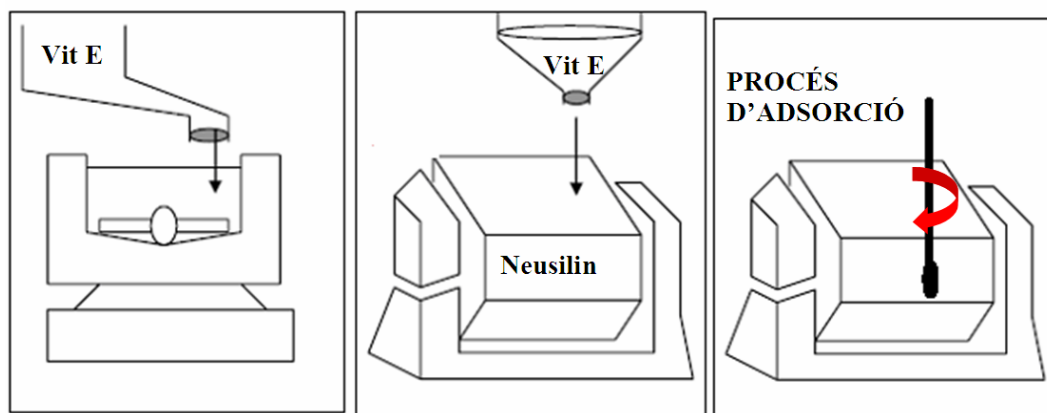


Figura 63: Procés de preparació de les mostres de l'estudi de capacitat d'adsorció

Durant la preparació de les mostres el líquid s'afegeix sobre el sòlid de forma constant i monitorada, perquè tant el substrat porós com l'excipient líquid a adsorbir tinguin la mateixa temperatura.

b) Solució/Suspensió sòlida al 8.33% per l'estudi de capacitat d'adsorció

La preparació de la mostra de solució/suspensió sòlida per estudiar la capacitat d'adsorció de la solució/suspensió sòlida en Neusilin® es va preparar de la següent manera:

Es va escalfar un gram de Vitamina E-TPGS fins a 80 °C, sense deixar d'escalfar i sota l'agitació de la placa calefactora a aquest gram de Vitamina E-TPGS fosa es van afegir 83,30 mg de principi actiu i es va seguir agitant fins que es va observar que el principi actiu s'havia solubilitzat. Es va obtenir un semi-sòlid viscos de color groc i aparença translúcida.

En paral·lel es va escalfar Neusilin® a 80 °C i a un gram, pesat exactament de Neusilin® pre-escalfat, es va afegir 1,5 g de la solució/suspensió preparada de Vitamina E-TPGS i principi actiu. La barreja es va agitar fins a aconseguir una pols que fluïa i que no tenia cap mena de residu líquid, i després es va deixar refredar sobre una superfície a temperatura ambient durant 24 hores.

1.2.2.3- Mostres per l'estudi desorció del principi actiu del Neusilin®

Per aquest estudi es varen elaborar les mostres, sota la mateixa metòdica que per l'estudi de adsorció amb principi actiu, de la següent manera:

Es va procedir a pesar de 1 g de Vitamina E-TPGS. Es va escalfar un gram de Vitamina E-TPGS fins arribar a 80 °C, sota l'agitació. A aquest gram de Vitamina E-TPGS fosa es van afegir 83,30 mg de principi actiu i es va seguir agitant fins que es va observar que el principi actiu s'havia solubilitzat. En paral·lel es va escalfar Neusilin® a 80°C.

Seguidament, a un gram, pesat exactament de Neusilin® pre-escalfat, es va afegir (a poc a poc i en alíquotes de 50 mg) 1,5g de la solució/suspensió preparada de Vitamina E-TPGS i principi actiu. La barreja es va agitar fins a aconseguir una pols que fluïa i que no tenia cap mena de residu líquid, i després es va deixar refredar sobre una superfície a temperatura ambient durant 24 hores.

1.2.2.4- Fabricació de comprimits amb solució/suspensió Sòlida de Vitamina E-TPGS**a- Elaboració de la solució/suspensió sòlida de Vitamina E-TPGS**

La suspensió/solució sòlida de Vitamina E-TPGS es va preparar a escala molt petita al laboratori tal i com s'explica a continuació.

La taula 29 mostra la composició detallada de la solució/suspensió sòlida elaborada i la taula 30 la composició quantitativa de la formulació final així com les quantitats necessàries per la seva elaboració.

Taula 29: Detall de la composició de la solució/suspensió sòlida de VitaminaE-TPGS

Components	g/barreja	%
Vitamina E-TPGS	45,0	90,0
Principi Actiu	5,0	10,0
TOTAL	50,0	100,0

Taula 30: Detall de la composició de la solució/suspensió sòlida de VitaminaE-TPGS adsorbida en el “carrier” porós

Components	g/barreja	%
Solució/Suspensió Sòlida VitE-TPGS:Actiu	30,0	60,0
Neusilin®	20,0	40,0
TOTAL	50,0	100,0

Es van escalfar 45,0 grams, exactament pesats, de Vitamina E-TPGS fins a 80 °C, sense deixar d'escalfar i sota l'agitació de la placa calefactora a aquesta quantitat de Vitamina E-TPGS fosa es van afegir 5,0 g, també exactament pesats, de principi actiu. Es va seguir agitant fins que es va observar que el principi actiu s'havia solubilitzat.

En paral·lel es va escalfar Neusilin® a 80 °C i a 20 grams de Neusilin® pre-escalfat, es van afegir 30 g de la solució/suspensió preparada de Vitamina E-TPGS i principi actiu fos. La barreja es va agitar fins a aconseguir una pols fina, fluïda i absent de grumolls ni residus.

Posteriorment es va deixar refredar sobre un paper de filtre, en el marbre del laboratori, a temperatura ambient durant 24 hores. Un cop refredada la solució/suspensió sòlida adsorbida es va tamitzar mitjançant una malla de 1 mm de diàmetre i es va prosseguir amb la barreja de la resta d'excipients per arribar a la formulació final, detallada a la taula 31.

Taula 31: Detall de la composició quantitativa de la formulació final

Components	g/barreja	%
Solució/Suspensió Sòlida Activa en Neusilin®	16,70*	60,0
Lactosa	5,57	20,0
Cel·lulosa Microcristal·lina	2,23	8,0
Starch 1500	1,95	7,0
Crospovidona	1,10	4,0
Estearat Magnèsic	0,28	1,0
TOTAL	27,83	100,0

* Equivalents a 1 g de principi actiu

b- BARREJA dels excipients de compressió

Dels aproximadament 25 g obtinguts després de l'etapa de molturació se'n va separar una mostra per realitzar la caracterització analítica (per facilitar la caracterització de la mostra per XRPD), i es va continuar el procés amb la mescla dels altres excipients de compressió.

Es van barrejar 16,7 g de la solució/suspensió sòlida adsorbida (VitaminaE-TPGS:API:Neusilin®) amb 5,57 g de Lactosa, 2,23 g de Cel·lulosa Microcristal·lina, 1,95 g de Starch 1500 i 1,10 g de Crospovidona en un mesclador Rulon® a 50 rpm durant 10 minuts. Finalment es va afegir 0,28 g de Estearat magnèsic i es van mesclar durant 1 minut a 50 rpm per obtenir la mescla final per comprimir.

c- COMPRESSIÓ de la mostra amb Vitamina E-TPGS en Neusilin®

La barreja tamitzada es va emprar per preparar comprimits de 278,3 mg de pes, 8 mm de diàmetre i 3,6 mm d'alçada, en una premsa hidràulica Carver emprant 2,7 kN de força de compressió.

1.2.3- Mètodes per a l'elaboració de comprimits que contenen solucions/suspensions sòlides de Vitamina E-TPGS en una matriu d'alliberació controlada.

1.2.3.1- Estudis previs: Selecció del polímer d'alliberació controlada

El primer dels estudis previs per estudiar la formulació d'alliberació controlada va consistir en la selecció del polímer "retard".

Per a l'execució d'aquest estudi es va preparar un granel de 75 g de solució/suspensió sòlida activa adsorbida en Neusilin®.

a- Elaboració de la solució/suspensió sòlida de Vitamina E-TPGS adsorbida en Neusilin®

La taula 32 mostra la composició detallada de la solució/suspensió sòlida elaborada i la taula 33 la composició quantitativa de la formulació final així com les quantitats necessàries per la seva elaboració.

Taula 32: Detall de la composició de la solució/suspensió sòlida de VitaminaE-TPGS

Components	g/barreja	%
Vitamina E-TPGS	45,0	90,0
Principi Actiu	5,0	10,0
TOTAL	50,0	100,0

Per l'elaboració de la solució/suspensió sòlida es van escalfar 45,0 grams, exactament pesats de Vitamina E-TPGS fins a 80 °C, sense deixar d'escalfar i sota l'agitació de la placa calefactora a aquesta quantitat de Vitamina E-TPGS fosa es van afegir 5,0 g, també exactament pesats de principi actiu i es va seguir agitant fins que es va observar que el principi actiu s'havia solubilitzat.

En paral·lel es va escalfar Neusilin® a 80 °C i a 30 grams de Neusilin® pre-escalfat, es van afegir 45 g de la solució/suspensió preparada de Vitamina E-TPGS i principi actiu fos. La barreja es va agitar fins a aconseguir una pols fina, fluïda i absent de grumolls ni residus. Posteriorment es va deixar refredar sobre un paper de filtre, en el marbre del laboratori a temperatura ambient durant 24 hores.

Taula 33: Detall de la composició de la solució/suspensió sòlida de VitaminaE-TPGS adsorbida en el “carrier” porós

Components	g/barreja	%
Solució/Suspensió Sòlida VitE-TPGS:Actiu	45,0	60,0
Neusilin®	30,0	40,0
TOTAL	75,0	100,0

Un cop refredada la solució/suspensió sòlida adsorbida es va tamitzar mitjançant una malla de 1 mm de diàmetre i es va prosseguir amb la barreja de la resta d'excipients per arribar a la formulació final.

b- BARREJA dels excipients de compressió

Dels aproximadament 75 g obtinguts després de l'etapa de tamització se'n va separar quatre alíquotes de 16,7 g. Per cadascuna de les formulacions es van barrejar aquests 16,7 g de la solució/suspensió sòlida adsorbida (VitaminaE-TPGS:API:Neusilin®) amb Lactosa, HPMC K100 LV, en un mesclador Rulon® a 50 rpm durant 10 minuts. Finalment es va afegir 0,65 g de Estearat magnèsic i es van mesclar durant 1 minut a 50 rpm per obtenir la mescla final per comprimir.

En la taula 34 es detallen els pesos emprats per cadascuna de les formulacions.

Taula 34: Detall de la composició quantitativa de la formulació final

Components	Formula HPMC g/barreja	Formula Òxid de polietilè g/barreja
Solució/Suspensió Sòlida Activa en Neusilin®	16,70*	16,70*
Lactosa	18,40	18,40
HPMC K100LV	29,25	-
Òxid de polietilè N80	-	29,25
Estearat Magnèsic	0,65	0,65
TOTAL	65,00	65,00

* Equivalents a 1 g de principi actiu

La taula 35 mostra la composició de les dues formulacions en percentils.

Taula 35: Detall de la composició percentil de la formulació final

Components	Formula HPMC %	Formula Òxid de polietilè %
Solució/Suspensió Sòlida Activa en Neusilin®	25,69	25,69
Lactosa	28,31	28,31
HPMC K100LV	45	-
Òxid de polietilè N80	-	45
Estearat Magnèsic	1,00	1,00
TOTAL	100,00	100,00

c- COMPRESSIÓ de la mostra amb Vitamina E-TPGS en Neusilin® per fer matrius retard

Cadascuna de les barreges, un cop tamitzada, es va emprar per preparar comprimits de 650,0 mg de pes, 12,7 mm de diàmetre (1/2 polzada), en una premsa hidràulica Carver emprant 10 kN de força de compressió.

1.2.3.2- Estudis previs: Influència del percentatge HPMC

Per als estudis previs per tal de definir d'una formulació quantitativa correcta i òptima va dissenyar un experiment per determinar quin seria el percentatge de càrrega de polímer més òptim.

Per a l'execució d'aquest estudi es va preparar un granel de 75 g de solució/suspensió sòlida activa adsorbida en Neusilin®, repetint exactament el mètode descrit en l'apartat 1.2.2.2 d'aquest mateix capítol.

a- Elaboració de la solució/suspensió sòlida de Vitamina E-TPGS adsorbida en Neusilin®

La taula 36 mostra la composició detallada de la solució/suspensió sòlida elaborada i la taula 37 la composició quantitativa de la formulació final així com les quantitats necessàries per la seva elaboració.

Taula 36: Detall de la composició de la solució/suspensió sòlida de VitaminaE-TPGS

Components	g/barreja	%
Vitamina E-TPGS	45,0	90,0
Principi Actiu	5,0	10,0
TOTAL	50,0	100,0

Per l'elaboració de la solució/suspensió sòlida es van escalfar 45,0 grams, exactament pesats de Vitamina E-TPGS fins a 80 °C, sense deixar d'escalfar i sota l'agitació de la placa calefactora a aquesta quantitat de Vitamina E-TPGS fosa es van afegir 5,0 g, també exactament pesats de principi actiu i es va seguir agitant fins que es va observar que el principi actiu s'havia solubilitzat. En paral·lel es va escalfar Neusilin® a 80 °C i a 30 grams de Neusilin® pre-escalfat, es van afegir 45 g de la solució/suspensió preparada de Vitamina E-TPGS i principi actiu fos. La barreja es va agitar fins a aconseguir una pols fina, fluïda i absent de grumolls ni residus. Posteriorment es va deixar refredar sobre

un paper de filtre, en el marbre del laboratori a temperatura ambient durant 24 hores.

Taula 37: Detall de la composició de la solució/suspensió sòlida de VitaminaE-TPGS adsorbida en el “carrier” porós

Components	g/barreja	%
Solució/Suspensió Sòlida VitE-TPGS:Actiu	45,0	60,0
Neusilin®	30,0	40,0
TOTAL	75,0	100,0

Un cop refredada la solució/suspensió sòlida adsorbida es va tamitzar mitjançant una malla de 1 mm de diàmetre i es va prosseguir amb la barreja de la resta d'excipients per arribar a la formulació final.

b- BARREJA dels excipients de compressió

Dels aproximadament 75 g obtinguts després de l'etapa de tamització se'n va separar quatre alíquotes de 16,7 g. Per cadascuna de les formulacions es van barrejar aquests 16,7 g de la solució/suspensió sòlida adsorbida (VitaminaE-TPGS:API:Neusilin®) amb Lactosa, HPMC K100 LV, en un mesclador Rulon® a 50 rpm durant 10 minuts. Finalment es va afegir 0,65 g de Estearat magnèsic i es van mesclar durant 1 minut a 50 rpm per obtenir la mescla final per comprimir. En la taula 38 es detallen els pesos emprats per cadascuna de les formulacions.

Taula 38: Detall de la composició quantitativa de la formulació final

Components	Formula A g/barreja	Formula B g/barreja	Formula C g/barreja	Formula D g/barreja
Solució/Suspensió Sòlida Activa en Neusilin®	16,70*	16,70*	16,70*	16,70*
Lactosa	34,65	28,15	21,65	15,15
HPMC K100LV	13,00	19,50	26,00	32,50

Estearat Magnèsic	0,65	0,65	0,65	0,65
TOTAL	65,00	65,00	65,00	65,00

* Equivalents a 1 g de principi actiu

En les composicions en percentils (la taula 39) s'hi observen els rangs de estudi de nivells de HPMC K100LV (del 20 % al 50 %).

Taula 39: Detall de la composició percentil de la formulació final

Components	Formula A	Formula B	Formula C	Formula D
	%	%	%	%
Solució/Suspensió				
Sòlida	25,69	25,69	25,69	25,69
Activa en Neusilin®				
Lactosa	53,31	43,31	33,31	23,31
HPMC K100LV	20,00	30,00	40,00	50,00
Estearat Magnèsic	1,00	1,00	1,00	1,00
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00

c- COMPRESSIÓ de la mostra amb Vitamina E-TPGS en Neusilin® per fer matrius retard

La barreja tamitzada es va emprar per preparar comprimits de 650,0 mg de pes, 12,7 mm de diàmetre (1/2 polzada), en una premsa hidràulica Carver emprant 4 kN de força de compressió.

1.2.3.3- Estudis previs: Escalat de la granulació

Per l'elaboració de comprimits matricials d'alliberació controlada es va precisar un canvi d'escala de la preparació de la solució/suspensió sòlida de Vitamina E-TPGS adsorbida en Neusilin®. Tot i que, les preparatives dels lots a petita escala al laboratori (en vas de precipitats) fetes fins al moment havien resultat acceptables es va considerar imprescindible validar el procés de granulació per fusió en un equip que treballés sota el mateix principi operatiu que equips de mida pilot o bé industrials.

Per l'estudi de viabilitat del procés de granulació per fusió de Vitamina E-TPGS es van estudiar diversos equips, després de valorar les variables crítiques de procés, la versatilitat de l'equip i la possibilitat de poder escalar el procés a escales superiors en un futur es va optar per el granulador: "Mi-Pro High Shear Mixer Granulator" de ProCepT (figura 64).



Figura 64: Mi-Pro "high shear mixer granulator".

L'equip consisteix en un granulador/peletitzador d'alta velocitat que porta integrat un sistema d'addició de líquids de alta precisió així com un sensor de temperatura de producte (IR). L'equip també és capaç de mesurar la resistència (torque) absoluta del agitador (impeller). Tant l'agitador com el granulador estan equipats amb variador de velocitat i el disposa de contenidors intercanviables que poden cobrir mides de lot que oscil·lin entre els 15 g als 1000 g.

De les nou formulacions avaluades, només quatre d'elles es van carregar amb principi actiu per tal de minimitzar-ne el dispendi. La taula 40 mostra els percentatges carregats per cada lot.

Taula 40: Composició percentil dels nou lots realitzats

Experiment	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
Principi Actiu	-	-	-	6	-	6	6	-	6
Vitamina E-TPGS	60	60	60	54	60	54	47	70	54
Neusilin®	40	40	40	40	40	40	47	30	40

Durant la fase d'estudi de viabilitat es van emprar dos processos de fabricació:

- a) Mètode 1: Líquid sobre sòlid (emprat per els experiments 1 a 8 de la secció 1.2.3.3)

Primerament es van transferir 600 mg de Vitamina E-TPGS al contenidor de vidre. Aquest, es va escalfar fins a la temperatura predeterminada per el disseny d'experiments (85 °C ò 90 °C) fins que la Vitamina E-TPGS

es va fondre per complet. Durant tota l'etapa d'escalfament es va mantenir una agitació de 30-100 rpm. En aquest punt i un cop tota la vitamina E-TPGS estava completament fosa es va afegir el principi actiu (per els experiments no placebos) i es va agitar durant 30 minuts a 300 rpms.

Posteriorment es va augmentar la velocitat de l'agitador i del granulador (entre 800 i 2500 rpms, segons disseny d'experiments) i es va anar afegint el Neusilin®, manualment a través de la tolva de càrrega, sempre sota agitació i granulació contínues. Un cop es va considerar que tot el Neusilin® ja afegit i s'havia produït correctament l'adsorció es va obrir el bol, es van netejar les parets de l'equip amb una espàtula un sol cop i es va tornar a barrejar durant un minut.

b) Mètode 2: Sòlid sobre líquid (emprat per l'experiment 9 de la secció 1.2.3.3)

Primerament es va fondre el principi actiu en els 600 mg de Vitamina E-TPGS. Mentre estant, el contenidor de vidre es va pre-escalfar fins a la temperatura predeterminada per el disseny d'experiments (85 °C ò 90 °C) i s'hi va afegir el Neusilin® sota agitació contínua de 30-100 rpm. En aquest punt i un cop tota la vitamina E-TPGS estava completament fosa es va afegir el principi actiu (per els experiments no placebos) i es va agitar durant 5 minuts amb un agitador magnètic. Un cop la solució/suspensió sòlida de principi actiu en Vitamina E-TPGS estava preparada aquesta es va afegir a través del sistema de precisió d'incorporació de líquids, lentament a sobre del Neusilin® prèviament escalfat. Un cop es va haver afegit tota la Vitamina E es va augmentar la velocitat de l'agitador i del granulador (entre 800 i 2500 rpms, segons disseny d'experiments), sempre sota agitació i granulació contínues. Un cop es va considerar que per a tot el Neusilin® s'havia produït correctament l'adsorció es va obrir el bol, es van netejar les parets de l'equip amb una espàtula un sol cop i es va tornar a barrejar durant un minut.

1.2.3.4-Fabricació de comprimits amb 30 % HPMC

Les quantitats de solució/suspensió sòlida per aquest experiment procedien, en aquest cas, i per no malbaratar principi actiu, de l'estudi d'escalat al granulador de laboratori (Lot 4). La preparació en detall del lot 4 de suspensió sòlida activa de Vitamina E-TPGS adsorbida en Neusilin® s'explica a l'apartat anterior (capítol 2, secció 1.2.2.2) i la taula 41 mostra la composició percentil de la formulació de comprimits matriu retard elaborats:

Taula 41: Composició percentil dels comprimits matriu retard (30 % HPMC) amb solució/suspensió sòlida activa de Vitamina E-TPGS adsorbida en Neusilin®

Components	%
Solució/Suspensió Sòlida Activa en Neusilin®	25,69
Lactosa	43,31
HPMC K100LV	30,00
Estearat Magnèsic	1,00
TOTAL	100,00

* Equivalents a 10 mg de principi actiu

Després de realitzar la barreja de la solució/suspensió sòlida adsorbida en Neusilin® amb la lactosa i el talc es va obtenir la mescla final per comprimir. La barreja tamitzada es va emprar per a preparar comprimits de 650,0 mg de pes, 12,7 mm de diàmetre (1/2 polzada), en una premsa hidràulica Carver emprant 10 kN de força de compressió.

1.3- Anàlisi i caracterització de les mostres

La caracterització de les mostres preparades, que contenen solució/suspensió sòlida de HPMCP:VitaminaE-TPGS, de Vitamina E simple i les matrius retard es va fer segons les següents metodiques:

1.3.1 Riquesa i impureses

L'anàlisi de riquesa i impureses es va realitzar mitjançant HPLC equipat amb detector de UV. La columna emprada va ésser una Thermo Hypersil BDS C18, 50x4,6

mm, 5 µm. Es va emprar un gradient isocràtic A/B 20:80 amb una la fase mòbil de 5 mM d'acetat d'amoni:aigua (A) i 5 mM d'acetat d'amoni en aigua 10:90 H2O:Acetonitril (B). El flux era de 1,0 ml/min. La temperatura de la columna es va mantenir a 40 °C i el principi actiu es va detectar a 245 i a 275 nm, utilitzant el detector UV. El volum d'injecció va ser de 10 µL i el temps de mostra de 3 minuts. La figura 65 en mostra el cromatograma.

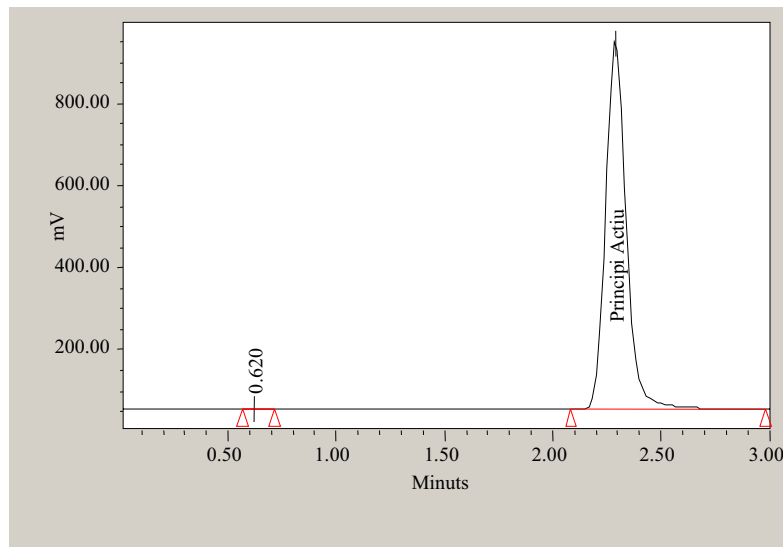
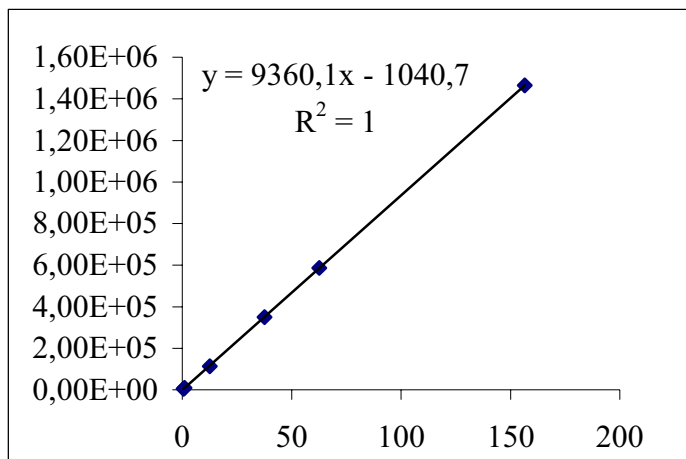


Figura 65: Cromatograma de l'anàlisi del principi actiu.

Linealitat del mètode de 0.6-156 µg/mL:



Conc de lstd, µg/mL	%Dif, de X
0,60	87,43%
1,00	94,38%
12,53	101,8%
37,58	100,3%
62,63	99,78%
156,58	100,0%

Figura 66: Linealitat del mètode de 0.6-156 µg/mL

Linealitat del mètode de 12-600µg/mL:

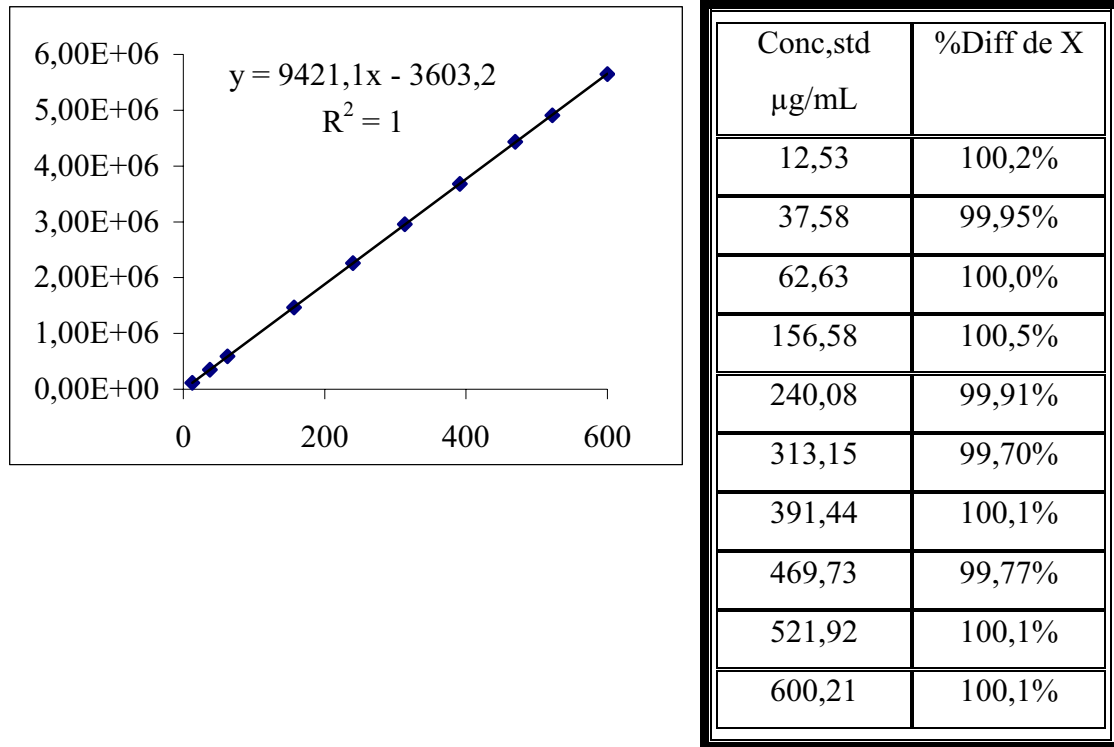


Figura 67: Linealitat del mètode de 12-600 µg/mL

1.3.2 Test de dissolució

Totes les mostres es van analitzar per a determinar la seva velocitat de dissolució. Per a tal fi, no es van considerar emprar mètodes estàndard descrits en les farmacopees per a avaluar sinó que ben al contrari, es van centrar els esforços en dissenyar un mètode que fos capaç de discriminar entre les nostres formulacions.

Els comprimits d'alliberació immediata, tant els que contenien solució/suspensió sòlida de HPMCP:Vitamina E-TPGS com els comprimits que contenien solució/suspensió sòlida de Vitamina E-TPGS es van analitzar en les següents condicions:

Es van col·locar en un aparell de dissolució USP tipus VII. El medi de dissolució emprat va ser Fluid Intestinal Simulat, 200 ml a 37 °C. Es varen treure alíquotes de 1 ml a temps inicial i posteriorment als 5, 15, 30, 60, 120 minuts i un últim punt al cap de 4 hores. Les alíquotes de 1 ml, es van centrifugar per separar possibles sòlids en suspensió i se'n va analitzar el sobrenedant mitjançant HPLC equipat amb detector de

UV. La columna emprada era una Thermo Hypersil BDS C18, 50x4,6 mm, 5 µm i la fase mòbil 50 mM format d'amoníac (pH 3,3):Acetonitril (40:60 v/v). El fluxe era de 1.5 ml/min. La temperatura de la columna es va mantenir a 35 °C i el principi actiu es va detectar a 260 nm, utilitzant el detector UV.

Per als comprimits d'alliberació controlada que contenien solució/suspensió sòlida de Vitamina E-TPGS, aquests es van col·locar en un aparell de dissolució USP tipus II Distek, amb pales a 75 rpm. El medi de dissolució emprat va ser Fluid Intestinal Simulat, 500 ml a 37 °C. A temps inicial i posteriorment als 12,15,30 i 45 minuts i a partir d'aquí a cada hora fins a les 24 hores. Es van treure alíquotes de 1 ml, centrifugar per separar possibles sòlids en suspensió i es va analitzar el sobrenedant mitjançant HPLC equipat amb detector de UV. La columna emprada era una Thermo Hypersil BDS C18, 50x4,6 mm, 5µm i la fase mòbil 50 mM format d'amoníac (pH 3.3):Acetonitril (40:60 v/v). El fluxe era de 1,5 ml/min. La temperatura de la columna es va mantenir a 35 °C i el principi actiu es va detectar a 260 nm, utilitzant el detector UV.

1.3.3 Difracció de raigs X de pols (XRDP)

La difracció de Raig X de Pols (XRDP) és una eina potent el la detecció de cristalinitat (Janssens S et al, 2007), (Janssens S et al. 2009). S'utilitza bàsicament com a primer mètode d'anàlisi i proporciona una "empremta digital" de cada forma cristal·lina analitzada. Proporciona una informació bàsica, amb un sistema que permet tant la preparació senzilla de les mostres com temps de mesura curts per a un gran nombre de mostres.

En concret, les mostres de les solucions/suspensions sòlides, un cop moltes i abans de comprimir es van analitzar mitjançant un Difractòmetre de pols D8 Advance Serie 2 Theta/Theta en geometria de transmissió amb ànode de Cu i monocromador de Ge per a Kα1 de Bruker (voltage 45 kV and current 40 mA). Les mostres es van col·locar en un suport del quan se'n va fer la petjada base per marcar el zero de fons i es van escanejar de 2 ° a 40 ° 2θ a una velocitat de escanejat de 0.02 ° 2θ /segon.

Algun dels difractogrames mostra alguna gema característica entre $30^\circ - 40^\circ 2\theta$ que es pot atribuir directament al suport de la mostra.

1.3.4 Calorimetria d'escombrat diferencial (DSC)

La Calorimetria d'Escombrat Diferencial és una tècnica termoanalítica en la qual la diferència de calor entre una mostra i una referència és mesurada com una funció de la temperatura. La mostra i la referència són mantingudes aproximadament a la mateixa temperatura a través d'un experiment. El principi bàsic subjacent a aquesta tècnica és que, quan la mostra experimenta una transformació física tal com una transició de fase, es necessitarà que flueixi més (o menys) calor a la mostra que a la referència per a mantenir ambdues a la mateixa temperatura. Que flueixi més o menys calor a la mostra depèn de si el procés és exotèrmic o endotèrmic. Determinant la diferència de flux calorífic entre la mostra i la referència, els calorímetres DSC són capaços de mesurar la quantitat de calor absorbida o eliminada durant tals transicions.

Usant aquesta tècnica és possible caracteritzar processos com la fusió i la cristal·lització així com temperatures de transicions vítries. Les transicions vítries es presenten quan s'augmenta la temperatura d'un sòlid amorf. Aquestes transicions apareixen com una alteració (o esglaió) en la línia base del senyal DSC registrada. Això és a causa de que la mostra experimenta un canvi en la capacitat calorífica sense que tingui lloc un canvi de fase formal.

A mesura que la temperatura augmenta, un sòlid amorf es farà menys viscos. En algun moment les molècules poden obtenir suficient llibertat de moviment per a disposar-se per si mateixes en una forma cristal·lina. Això és conegut com temperatura de cristal·lització. Aquesta transició de sòlid amorf a sòlid cristal·lí és un procés exotèrmic i dona lloc a un pic en la corba DSC. A mesura que la temperatura augmenta, la mostra aconsegueix eventualment la seva temperatura de fusió. El procés de fusió resulta evidenciat per un pic endotèrmic en la corba DSC.

En concret, les mostres de les solucions sòlides, un cop moltes i abans de comprimir es van analitzar mitjançant un Calorímetre Diamond DSC de Perkin Elmer. Es van pesar

quantitats de aproximadament 2 mg i es van col·locar en suports d'alumini, segellats, de 40 µL als que se'ls va fer un sol forat de 50 µm a la tapa. Els suports emprats per les mostres de referència van rebre el mateix tractament. Les mostres es van escanejar de -50 °C fins a 250 °C a una velocitat de 10 °C/min sota una atmosfera de 40 mL/min de nitrogen.

1.3.5 Anàlisi de la cinètica d'absorció d'aigua

L'anàlisi de la cinètica d'absorció-desorció d'aigua ens dona una idea de la higroscopicitat de la mostra. Les isoterms d'adsorció o desorció indiquen la quantitat d'aigua retinguda per un substrat en funció de la humitat relativa circumdant. Per al seu càlcul es procedeix col·locant mostres d'un mateix substrat en una sèrie de recipients tancats, en els quals es mantenen solucions salines saturades, determinant en l'equilibri dels continguts d'aigua mitjançant el mètode gravimètric.

En aquest cas es va emprar l'equip VTI SGA(Cahn D-200). La balança es va equipar amb Nitrogen "ultrapure®" amb un punt de rosada de -35 °C. Una mostra de 20-37 mg de pols es va sotmetre a una normalització de 60 °C sense humitat, com a procés de secat suau. El procés de secat es va determinar que dures uns 240 minuts o bé fins que la desviació de pes de la mostra pesada cada 2 minuts fos inferior al 0,005 % del pes anterior durant aquell període. Aquesta última condició va ser la que va prevaldre per totes les mostres i el procés de secat va durar al voltant d'uns 90 minuts en tots els cassos. Això va aportar a la mostra unes característiques consistentes per començar. Després es va programar una rampa per assolir l'estat d'equilibri on es marcava que la condició per saltar al següent pas fos que el pes de la mostra disminuís un 0,01 % en d'interval de 2 minuts o bé que haguessin passat 1000 minuts. Després de la fase de secat el sistema es va passar per el 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % i 90 %.

Posteriorment es va analitzar la mostra fins a una condició isotèrmica de 25 °C (+/-3 °C) emprant una rampa de 5 °C/min. Cada punt es va sotmetre a condicions d'equilibri on el pes mitjà de la mostra havia de mantenir-se amb un error del 0,005 % durant les pesades realitzades en 5 minuts o bé fins a que la mostra hagués restat en aquella

condició d'equilibri durant 240 minuts. Per la majoria de mostres el temps total de l'anàlisi van ser unes 120 hores.

1.3.6 Caracterització físico-química dels comprimits

Per la caracterització físico-química dels comprimits es van emprar els següents tests:

El Pes en mg dels comprimits obtinguts després de la compressió es va determinar de deu unitats, amb una balança Mettler XP205DR. L'alçada i el diàmetre també es van analitzar sobre les mateixes deu unitats mitjançant un peu de rei Mitutoyo CD-15D.

Per comprovar la duresa es va emprar un duròmetre Schleuninger 8M i per determinar la friabilitat de les mostres es va emprar un friabilòmetre Pharmatest PTZ 1DR i es van sotmetre 10 comprimits al test de Pharmacopea Europea. La disgregació dels comprimits es va fer mitjançant un disgregador Pharmatest PTZ AUTO-2EZ automàtic, amb sis unitats.

1.3.7 Anàlisi per HPLC de desorció del principi actiu i la Vitamina E-TPGS

Per estudiar si el principi actiu adsorbit en el Neusilin® era capaç d'alliberar-se del sistema i veure en quin tipus de model cinètic ho feia o bé si la seva alliberació es trobava condicionada d'alguna manera per l'excipient porós es van emprar els següents mètode:

Per analitzar correctament les velocitats de desorció dels components de la solució/suspensió sòlida de Vitamina E-TPGS i principi actiu es va emprar el següent gradient (Taula 42) en el mètode d'HPLC:

Taula 42: Gradient aplicat per l'anàlisi de mostres de l'estudi de velocitat de desorció

Temps:	0	1,5	3,0	5,0	6,5	8,0
A%:	25	25	10	10	25	25
B%:	75	75	65	65	75	75
C%:	0	0	25	25	0	0

Aquest gradient va permetre analitzar alhora el principi actiu i la Vitamina E-TPGS tal i com es mostra en la Figura 68.

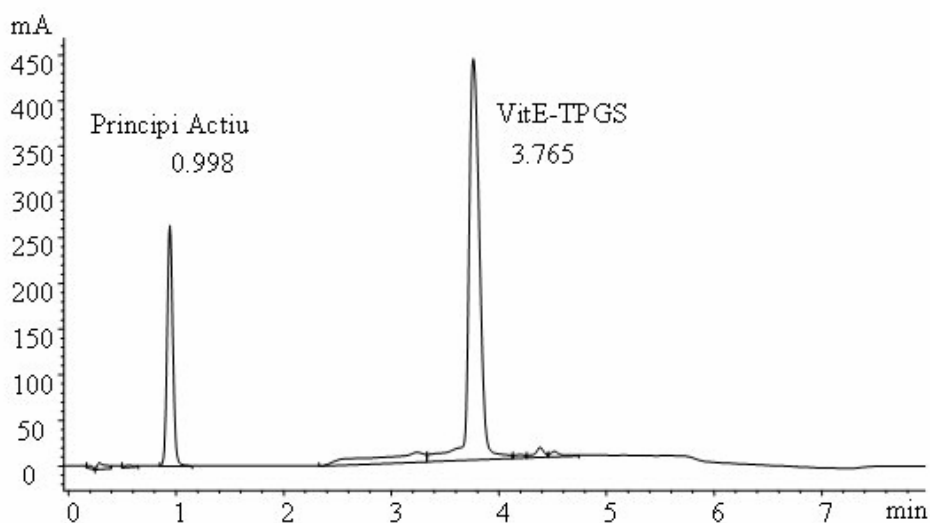


Figura 68: Cromatograma que mostra la viabilitat del co-anàlisi del principi actiu i la Vitamina E-TPGS.

La columna emprada va ser: BDS Hypersil C18, 5 μ m, 4.6x5,0 mm. La temperatura de la columna va ser de 40 °C i el flux de 1,0 ml/min. La longitud d'ona a la que es va llegir l'ultraviolat va ésser als 285 nm i el volum d'injecció emprat de 10 μ L.

La fase mòbil i el gradient aplicats varen ser: A: 5mM d'acetat d'amoni e aigua, B: Acetonitril i C: THF

AVÍS IMPORTANT

El text d'aquesta secció ha estat retirat seguint instruccions de l'autora de la tesi, en existir participació d'empreses, existir conveni de confidencialitat o existeix la possibilitat de generar patents

AVISO IMPORTANTE

El texto de esta sección ha sido retirado siguiendo instrucciones de la autora, al existir participación de empresas, convenio de confidencialidad o la posibilidad de generar patentes.

IMPORTANT NOTICE

The text of this section has been withdrawn on the instructions of the author, as there is participation of undertakings, confidentiality agreement or the ability to generate patent

3-CONCLUSIONS FORMES FARMACÈUTIQUES ORALS

3.1-Conclusions de l'elaboració de comprimits que contenen solucions/suspensions sòlides de HPMCP:Vitamina E-TPGS

- ⇒ Va resultar viable elaborar comprimits, que contenen una solució sòlida de HPMC:Vitamina E-TPGS molturada mitjançant excipients de compressió i processos d'elaboració convencionals (compressió directa).
- ⇒ Els resultats d'anàlisi i caracterització de la mostra van evidenciar que la formulació va resultar amb comprimits amb característiques físico-químiques correctes
- ⇒ Els resultats del test de dissolució van demostrar que la solució/suspensió sòlida vehiculitzada en el comprimit aconseguia alliberar el principi actiu en el medi en contrast amb el control (principi actiu pur).
- ⇒ Els resultats XRD i DSC van confirmar que s'havia aconseguit transformar el producte en amorf, facilitant així la millora de solubilitat del principi actiu.
- ⇒ L'estudi d'estabilitat de la mostra conclou que, durant un mes els resultats de riquesa, impureses i perfil de dissolució s'han mantingut correctes. Els estudis de XRD conclouen que producte no és cristal·lí després de 30 dies. Es recomanaria seguir l'evolució del canvi de DSC i de la impuresa que inicialment presentava valors >1 % (RRT 0,74/ 23,3 min)

3.2- Conclusions de l'elaboració de comprimits que contenen solucions/suspensions sòlides de Vitamina E-TPGS

- ⇒ Malgrat la Vitamina E –TPGS sigui un semi-sòlid difícil de manipular, va resultar viable elaborar comprimits, que contenen una suspensió sòlida de Vitamina E-TPGS:principi actiu gràcies a la seva adsorció en Neusilin®.
- ⇒ Els estudis d'absorció i desorció del Neusilin® no només van demostrar que el ràtio òptim de càrrega Neusilin®:suspensió sòlida era 2:1 sinó que la desorció era correcta.

- ⇒ Tot i la complexitat d'emprar un vehicle semi-sòlid per a l'elaboració de la suspensió sòlida, és possible obtenir comprimits que aconseguen alliberar la totalitat del principi actiu carregat en un test de dissolució "in vitro".
- ⇒ Així mateix, es va demostrar que la velocitat de dissolució era més ràpida per la suspensió sòlida adsorbida en Neusilin®, ja que la seva xarxa porosa augmentava la superfície de contacte de la suspensió semi-sòlida.
- ⇒ Els resultats XRD van demostrar que s'havia aconseguit obtenir una suspensió sòlida de principi actiu de Vitamina E-TPGS (3:1).
- ⇒ L'estudi d'estabilitat de la mostra conclou que, durant un més els resultats de riquesa, impureses s'han mantingut correctes. Per el que fa al perfil de dissolució, s'aprecia una davallada considerable del percentatge de principi actiu dissolt i els estudis de XRD conclouen que augmenta la fracció cristal·lina de producte després de 30 dies.

3.3- Conclusions de l'elaboració de comprimits que contenen solucions/suspensions sòlides de Vitamina E-TPGS, en una matriu d'alliberació controlada

- ⇒ Va resultar viable elaborar matrius retard que contenen una suspensió sòlida de Vitamina E-TPGS adsorbida en Neusilin®.
- ⇒ La comparativa entre Òxid de polietilè i HPMC va determinar que per elaborar una matriu retard amb les característiques desitjades per la nostra formulació, el polímer més viable era la HPMC.
- ⇒ Els estudis de nivell de polímer van concloure que per aconseguir un t90 de unes 6-8 hores calia emprar concentracions en la formulació del 30 % de HPMC.
- ⇒ L'estudi d'escalat de la formulació va concloure que era viable fabricar la solució/suspensió sòlida de Vitamina E-TPGS adsorbida en Neusilin® en un granulator Mi-Pro i que les dues mides de lot elaborades donaven resultats semblants.
- ⇒ Tot i la complexitat d'emprar un vehicle semi-sòlid per a l'elaboració de la suspensió sòlida, va ser possible obtenir comprimits que aconseguen alliberar de forma controlada el principi actiu carregat en un test de dissolució "in vitro".
- ⇒ L'estudi d'estabilitat de la mostra conclou que, durant un més els resultats de riquesa, impureses s'han mantingut i perfil de dissolució, s'han mantingut estables després de 30 dies, tot i no alliberar la totalitat del principi actiu.

DISCUSSIÓ

DISCUSSIÓ

Durant els darrers trenta anys la investigació i el desenvolupament de nous fàrmacs ha avançat de manera considerable gràcies a noves tecnologies, principalment motivat per les limitacions de les noves entitats químiques emergents. Un dels camps on la tecnologia farmacèutica ha representat un important avenç, és en l'estudi de formulacions basades en solucions i suspensions sòlides. Aquest tipus de formulacions representen un pas crític en la vehiculització de les molècules de Classe II (segons la BCS), que són un percentatge considerable de noves entitats químiques (Avdeef A. et al, 2001) i que, sense una formulació adequada, no es podrien fer arribar al pacient, via oral, de forma eficaç. Aquest és el cas del principi actiu emprat en aquest estudi (GC-3413) que, amb una solubilitat en aigua inferior a 1µg/ml, té una biodisponibilitat absoluta al voltant de l'1%, fet que el situa en un escenari pràcticament inviable.

L'any 1999, ATM Serajuddin va descriure per primera vegada que una de les múltiples opcions per tal de millorar la solubilitat i així, la biodisponibilitat d'un principi actiu és la possible formulació de suspensions i solucions sòlides estables que es podrien utilitzar en el desenvolupament de formes farmacèutiques. En aquestes formes, el principi actiu es trobaria englobat en un excipient que actués com a matriu, o bé dispersat com a partícules fines nanocrystal·lines o fins i tot partícules amorfes, en forma de solució o suspensió sòlida. La capacitat i importància d'una forma farmacèutica basada en una solució o suspensió sòlida, rau en el fet que no tant sols aconseguix millorar la solubilitat del principi actiu in vivo, gràcies a "fagocitar" el principi actiu, que es troba dissolt o bé dispers, en un excipient que actua com a matriu, sinó que en moltes ocasions també n'inhibeix la seva recristal·lització en el temps (Lipinski et al, 2001).

En contraposició, Malzert-Fréon i col·laboradors, i més recentment Rakesh i col·laboradors han postulat que la solubilitat d'un principi actiu determinat es pot millorar, en algunes ocasions, gràcies a la composició dels excipients d'una formulació i al tipus de forma farmacèutica (Malzert-Fréon A et al, 2010; Rakesh et al., 2012). En

aquests casos, es posaria en dubte la necessitat d'arribar a la formació de solucions/suspensions sòlides, que industrialment molt possiblement impliquen un esforç i un cost addicional. Però la realitat és que només amb la barreja d'excipients i la forma farmacèutica és molt difícil de poder solubilitzar correctament molts dels principis actius de classe II, i encara menys arribar a biodisponibilitats adequades pel seu ús farmacèutic. Per tant, les solucions i les suspensions sòlides permeten, a dia d'avui, millorar considerablement la solubilització i millorar la biodisponibilitat, sobretot per als principis actius de classe II.

Així doncs, la baixa solubilitat, però elevada permeabilitat de les molècules de Classe II fa que es puguin classificar com a formulació-depenents i per tant permet, gràcies a la combinació de formulacions innovadores i de tecnologies específiques, millorar potencialment la seva exposició "in vivo". En concret en aquesta tesi es van tractar diferents tecnologies segons l'estadi del projecte, tot i sospesant, en cadascun d'aquests estadis, les necessitats del cribratge d'alta eficàcia, mitjançant "solvent casting" durant els estudis de pre-formulació inicial, passant per la premsa per fusió en el cas de necessitar mostres més semblants al producte hipotèticament comercial final i l'extrusor per fusió on es va valorar la capacitat de poder reproduir els resultats dels lots petits a gran escala.

En el cas de l'ús de la premsa per fusió, durant el procés de compressió per fusió, s'obté una mescla eutèctica del principi actiu i excipients en estat fos, que un cop refredada aconsegueix l'obtenció de solucions/suspensions sòlides. La possible avantatge d'emprar aquesta tècnica, és l'afinitat i el possible paral·lelisme en l'extrapolació d'aquests resultats a la posterior extrusió a gran industrial.

Tal com ja havia estat descrit per Mansky i col·laboradors (Mansky et al., 2007), la tècnica de "solvent casting" va permetre realitzar, de forma altament eficaç, un gran nombre d'experiments (incloent mostres simples i mostres binaries) que van orientar la formulació cap a una correcta composició qualitativa. Desxifrant que probablement un dels millors polímers a emprar com a vehicle eren els derivats cel·lulòsics i que el surfactant més prometedora era la Vitamina E-TPGS. La comparativa d'aquests resultats amb els obtinguts mitjançant la premsa per fusió va fer palès que la tecnologia a emprar és un punt crític ja que al utilitzar, en el cas del "solvent casting" dissolvents orgànics,

fa que el solvent tingui un impacte potencial en l'estat físic de la solució/suspensió sòlida així com en el seu comportament en dissolució, però en qualsevol cas, validant-la com a tècnica de cribratge ràpid.

D'altra banda, es va emprar l'extrusor per fusió per l'elaboració de mostres "in-vivo" i per l'elaboració del granel per la preparació dels comprimits finals. Aquest és el mètode tradicional d'elecció a escala industrial per a la formació de solucions/suspensions sòlides i, en aquest cas, la mescla només es troba sotmesa a elevades temperatures durant molt pocs minuts i, per tant, el risc de degradació de l'actiu és força baix.

Conjuntament, com que en aquesta tesi vam utilitzar aquestes tres tècniques tant diverses per a produir solucions/suspensions sòlides, els nostres resultats ens van permetre comparar directament el nivell de solubilització de principi actiu obtingut per cada tècnica. Així, totes les tècniques emprades van donar uns resultats positius en les mostres "control", que van estar capaces de produir mostres que van millorar la solubilitat del principi actiu. Tot i això els resultats no van ser comparables entre ells ni es va poder establir cap relació o proporció entre els resultats obtinguts amb les diverses tècniques de forma quantitativa, però qualitativament les tècniques van demostrar molta consistència.

En el cas de l'extrusió per fusió, l'anàlisi comparatiu amb el mètode de "solvent casting" és similar al de la premsa per fusió i de nou, no es pot esperar d'entrada que les formulacions preparades via "solvent casting" tinguin resultats idèntics, ja que en un extrusor per fusió els excipients i el principi actiu van estar sotmesos a pretractaments de mescla i homogeneïtzació dels components que, juntament amb les forces de cisalla del vis-sens-fi i les altes temperatures, van fer que la dispersió dels components fos radicalment diferent al mecanisme de "solvent casting".

Són també d'igual importància les interaccions físico-químiques entre els components de la formulació, i això es va fer palès segons el mètode d'elaboració emprat fos un mètode de fusió per calor o bé un mètode d'evaporació de solvent on els mecanismes de formació d'una potencial solució/ suspensió sòlida eren molt diferents. Així per exemple, si es tractés d'un principi actiu molt poc miscible en els excipients escollits o bé si els excipients en qüestió tinguessin molt poca capacitat per solubilitzar o

estabilitzar el compost en medi aquós la preparació de mostres amb tècniques d'extrusió per fusió no seria capaç de solventar aquestes barreres. De manera similar, si el principi actiu i els excipients escollits es mesclassin de forma molt favorable en un mateix solvent llavors la tècnica de "solvent casting" seria molt favorable per la formació de solucions/suspensions sòlides.

Per el que respecta a la composició de la formulació, inicialment es van proposar les solucions i les suspensions sòlides amb un polímer que fa de matriu de tipus hidrosoluble, com per exemple el poliòxid d'etilè, la polivinilpirrolidona, la hidroxipropil metil cel·lulosa i altres derivats cel·lulòsics. Actualment, en el mercat existeixen formulacions d'aquest tipus amb algunes molècules molt insolubles com ara la Griseofulvina en polietilenglicol (Gris-PEG®, Novartis), la nabilona en povidona (Cesamet®, Lilly) i l'itraconazol en una mescla de polietilenglicol i hidroxipropil metil cel·lulosa (Sporanox®, Janssen).

L'any 2006, diversos estudis van demostrar el benefici de la utilització de combinacions d'excipients per a millorar les solucions i suspensions sòlides (Ghebremeskel et al., 2006) (Okonogi i Puttipatkhachorn, 2006). Aquests van demostrar que l'addició de un 10 % de surfactants a suspensions sòlides basades en PVP i HPMC podien arribar a ésser molt potents en termes de millora de solubilitat sense comprometre l'estabilitat de les formulacions. A més, Okonogi i Puttipatkhachorn (2006), també van descriure una millora considerable de la velocitat de dissolució de l'oflaxacina quan s'empraven suspensions sòlides basades en PEG i que contenien un 10 % de surfactant. D'aquests estudis se'n va concloure que les suspensions sòlides que combinen més d'un excipient podien potencialment generar sinèrgies i millorar les formulacions respecte al que es pot aconseguir quant es treballa amb un excipient sol.

Els nostres resultats de cribatge sistemàtic de combinacions d'excipients polímer:surfactant van demostrar la presència d'alguns efectes sinèrgics i van aconseguir resultats molt prometedors a nivell de dissolució del principi actiu, consistents amb les dades prèviament publicades.

En el cas de la primera formulació de comprimit desenvolupada en aquesta tesi, la solució sòlida es va aconseguir mitjançant una combinació binària on el polímer que

feia de matriu era la hidroxipropil metil cel·lulosa i el surfactant la Vitamina E-TPGS. La solució sòlida resultant es va obtenir mitjançant l'extrusió per fusió. En aquests processos, està descrit que l'extrudat que s'obté, s'ha de processar, tallant o bé molturant els filaments obtinguts, per tal d'obtenir grànuls, pellets o bé pols fina per poder-los vehiculitzar posteriorment en comprimits. Tots aquests processos van acompanyats d'energia mecànica que potencialment influeix en l'estat sòlid de la solució sòlida i com que les solucions sòlides vítries són sistemes metastables poden tendir a recristal·litzar l'estudi de l'estabilitat de la forma farmacèutica final obtinguda és de notable importància. En la nostra primera formulació (HPMCP:Vitamina E-TPGS) es va demostrar estabilitat de la solució sòlida durant un mes.

Així doncs, la recerca publicada fins al moment, incloent els resultats de combinacions binàries descrites en aquesta tesi, semblen concloure de forma contundent que les formulacions de solucions i suspensions sòlides multi-component són més exitoses i poden tenir més potencial que les treballades amb excipients simples. Donat el nombre de polímers i surfactants potencials existents, el nombre de combinacions i ràtios a provar és conceptualment infinit. Això suposa una limitació pràctica en el fet que en general només es poden estudiar un nombre bastant limitat de formulacions en cada estudi, el que fa pràcticament impossible un cribratge àgil i senzill.

L'establiment d'una nova tècnica de cribratge miniaturitzat que s'ha desenvolupat en aquesta tesi, permet d'una banda l'avaluació de múltiples combinacions compost/polímer/surfactant per poder identificar sinèrgies inicials i guiar posteriors estudis de formulació i de l'altra minimitzar quantitats excessives de principi actiu que s'haurien de gastar per tal de poder fer un cribratge extens, restricció més que probable en els estadis incipients del desenvolupament d'un nou fàrmac. Tot això combinat amb una extensa automatització en la preparació de les mostres permet afirmar que en aquesta tesi s'ha aconseguit un cribratge ràpid d'alt rendiment i s'ha maximitzat la capacitat de provar diferents formulacions.

Els nostres resultats amb la tècnica de "solvent casting miniaturitzat" són consistents amb els prèviament publicats per Mansky i col·laboradors, on es va descriure que en les cinètiques de dissolució de les formulacions amb surfactants sols, s'observaren desviacions standard més elevades, perquè possiblement estan al límit de la re-

precipitació en el moment de la presa de mostra i de la quantificació analítica (Mansky et al., 2007).

Els estudis de solvent casting miniaturitzat d'aquesta tesi també fan palesa una de les limitacions d'aquesta tècnica de cribratge, que és que s'empra com a única tècnica de mesura de l'obtenció de solucions i suspensions sòlides el perfil de dissolució que, tot i que indicatiu, tot sol no és capaç de donar-nos informació sobre l'estat físic del principi actiu en la formulació (cristalinitat). De tota manera, és important veure que per finalitats de cribratge ràpid inicial, el test de dissolució és una de les característiques més avaluades i també n'és la més rellevant respecte la finalitat última de la forma farmacèutica final, que és la de millorar potencialment la biodisponibilitat del principi actiu. Així doncs, una formulació que fos una solució o suspensió sòlida (demostrada per varies tècniques de caracterització físico-química) però que precipités de forma pràcticament instantània en dissolució seria absolutament inútil. De la mateixa manera, una suspensió sòlida parcialment cristal·lina amb bones característiques de solubilitat o bé poca re-precipitació pot ésser prometedora i també es pot discriminar mitjançant un test de dissolució, per tant, en aquest aspecte, el test de dissolució ens demostra ésser una mesura molt pràctica, malgrat les seves limitacions.

Així doncs, una caracterització complerta de l'estat físic de les mostres i la seva estabilitat és imprescindible i d'elevada importància en mostres de producte formulat acabat, però en cribratges d'estadis inicials de formulació el perfil de dissolució es pot considerar suficient.

La majoria de treballs publicats fins ara sobre la utilització de solucions i suspensions sòlides en formes farmacèutiques, descriuen com a excipient majoritari o bé adjuvant ideal un surfactant o bé un lípid, amb punts de fusió normalment baixos i que es presenten, a temperatura ambient com a líquids o semi-sòlids (Desrosiers P. et al, 2003), (Morissette SL. et al, 2004). És per tant en el camp de les formes farmacèutiques sòlides on les solucions/suspensions sòlides tenen un gran potencial per descobrir.

A partir de diversos estudis publicats els anys 2003-2005, és conegut que fórmules basades en suspensions preparades amb surfactants semi-sòlids, com ara Vitamina E TPGS (Shin and Kim, 2003) i Gelucire 44/14 (Soliman and Khan, 2005; Yuksel et al.,

2003) tenen l'activitat potencial de facilitar la dissolució i inhibir la precipitació en el tracte gastrointestinal. Això és degut a les seves propietats solubilitzants però val a dir que típicament tenen punts de fusió força més baixos i per tant permeten un grau de mobilitat molt major de les molècules en estat sòlid que no pas els polímers. Per tant, totes les formulacions basades doncs amb aquests excipients es preveu que haurien de ésser bastant menys estables en front a la recristal·lització del compost en estat sòlid (Khoo et al.,2000). Tot i això, en general, tots els semi-sòlids són més difícils de incorporar en les formes sòlides orals.

Aquest és el cas de la segona formulació de comprimit desenvolupada en aquesta tesi, on la utilització de Vit.E-TPGS; amb un punt de fusió al voltant de 37 °C, i que es presenta en estat semi-sòlid, però la seva utilització en la formació de la solució sòlida permet una millora substancial de la solubilitat del principi actiu fins hi tot quan es vehiculitza mitjançant l'adsorció en partícules poroses, la qual cosa és consistent amb els resultats prèviament publicats.

És d'especial importància destacar els estudis realitzats d'adsorció i desorció de la solució sòlida de principi actiu adsorbit en la matriu porosa de l'aluminosilicat, tècnica que, tot i presentar certes limitacions, com ara tenir una capacitat de càrrega dels porus limitada, permet incorporar de forma senzilla líquids a dins de sistemes sòlids. En el cas de la formulació del comprimit que contenia la suspensió sòlida de VitaminaE-TPGS també se'n va provar l'estabilitat durant un mes.

Anant una mica més enllà i amb l'intenció de validar el concepte de "plataforma" per solucions i suspensions sòlides formades per líquids es va desenvolupar la matriu d'alliberació controlada que aconseguia, de forma estable, alliberar el principi actiu, en solució sòlida de manera controlada durant unes 8-10 hores. Essent consistents els resultats amb el que era d'esperar amb la base polimèrica de la matriu d'alliberació controlada standard però ara vehiculitzant la suspensió sòlida de Vitamina E-TPGS adsorbida en l'aluminosilicat.

Aquesta tesi doctoral doncs, s'ha enfocat en l'estudi i caracterització de diverses solucions i suspensions sòlides per utilitzar-les en l'elaboració de formes farmacèutiques sòlides via oral, concretament comprimits i comprimits d'alliberació controlada preparats per compressió directa.

CONCLUSIONS GENERALS

CONCLUSIONS GENERALS TESI

En aquesta tesi doctoral s'ha realitzat un cribratge ràpid de formulacions binàries i ternàries per l'estudi de solucions i suspensions sòlides mitjançant tècniques innovadores i eficients. Posteriorment s'han emprat els resultats d'aquest cribratge per l'elaboració de formes farmacèutiques que permetin l'administració oral de fàrmacs poc solubles de forma estable, segura i eficaç. D'acord amb els objectius d'aquesta tesi s'ha arribat a les següents conclusions:

1. Les tècniques de cribratge ràpid a escala de laboratori emprant la premsa per fusió i el "solvent casting" són viables i representatives, de forma qualitativa, dels resultats que s'obtenen per tècniques d'extrusió per fusió i fins hi tot dels resultats "in vivo". La tècnica de "solvent casting" miniaturitzat permet, de forma eficient, solventar el repte d'analitzar una combinatòria molt elevada de mostres per trobar possibles formulacions candidates.
2. L'estudi de l'escalat de les formulacions a equips d'escala pilot, com l'extrusor per fusió, va permetre demostrar la viabilitat industrial de les formulacions obtingudes en el nostre cribratge, així com ratificar la relació dels resultats, a nivell qualitatiu, de l'estudi del cribratge amb els estudis "in vivo".
3. Tant en l'estudi del cribratge (capítol 1), com en l'estudi de les formes farmacèutiques (capítol 2), s'ha comprovat d'una evident millora de la solubilitat i la velocitat de dissolució del principi actiu "*in vitro*" i "*in vivo*" de les formulacions candidates.
4. L'estudi extens del capítol 2 ha demostrat la viabilitat de l'elaboració de formes farmacèutiques, tant d'alliberació immediata com controlada, que continguin solucions o suspensions sòlides, tant de tipus sòlid com semisòlid, que han demostrat una millora de la solubilitat del principi actiu.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Abdel-Rahman AA, Aboutaleb AE, Samy EM. Factors affecting chlordiazepoxide solubilization by non-ionic surfactants. *Bull Pharm Sci Assiut Univ*, 1991; 14(1–2): 35–45
2. Alderman DA, Schulz GJ. Method of making a granular, cold water dispersible coating composition for tablets. United States Patent No. 4,816,298; 1989
3. Alderman DA. Sustained release compositions comprising hydroxypropyl cellulose ethers. United States Patent No. 4,704,285; 1987
4. Allen LV. Featured excipient: capsule and tablet lubricants. *Int J Pharm Compound* 2000; 4(5): 390–392
5. Amidon GL, Lennernäs H, Shah VP, Crison JR (March 1995). A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm. Res.* 12 (3): 413–420
6. Anderson BC, Pandit NK, Mallapragada SK. Understanding drug release from poly(ethylene oxide)-b-(propylene oxide)-b-poly(ethylene oxide) gels. *J Control Release*, 2001; 70: 157–167
7. Arunothayanun P, Uchegbu IF, Craig DQM, Turton JA, Florence AT. In vitro/in vivo characterization of polyhedral niosomes. *Int J Pharm* 1999; 183(1): 57–61
8. Avdeef A. Physicochemical profiling (solubility, permeability and charge state). *Curr Top Med Chem*, 2001; 1(4):277-351
9. Banker G, Peck G, Jan S, Pirakitikulr P. Evaluation of hydroxypropyl cellulose and hydroxypropyl methyl cellulose as aqueous based film coatings. *Drug Dev Ind Pharm*, 1981; 7: 693–716
10. Becker D, Rigassi T, Bauer-Brandl A. Effectiveness of binders in wet granulation: comparison using model formulations of different tableability. *Drug Dev Ind Pharm*, 1997; 23(8): 791–808
11. Bochot A, Fattal E, Gulik A. Liposomes dispersed within a thermosensitive gel: a new dosage form for ocular delivery. *Pharm Res*, 1998; 15: 1364–1369
12. Bodmeier R, Paeratakul O, Chen H, Zhang W. Formation of sustained release wax matrices within hard gelatin capsules in a fluidised bed. *Drug Dev Ind Pharm*, 1990; 16: 1505–1519
13. Chambin O, Jannin V. Interest of multifunctional lipid excipients: case of Gelucire 44/14. *Drug Dev Ind Pharm*, 2005; 31(6): 527–534

14. Chauhan B, Shimpi S, Paradkar A. Preparation and evaluation of glibenclamide-polyglycolized glycerides solid dispersions with silicon dioxide by spray drying technique. *Eur J Pharm Sci*, 2005; 26(2): 219–230
15. Chen H, Zhang Z, McNulty C, Olbert C, Yoon HJ, Lee JW, Kim SC, Seo MH, Oh HS, Lemmo AV, Ellis SJ, Heimlich K. A high-throughput combinatorial approach for the discovery of a cremophor EL-free paclitaxel formulation. *Pharm Res.*, 2003; 20(8):1302-8
16. Chowhan ZT. Role of binders in moisture-induced hardness increase in compressed tablets and its effect on in vitro disintegration and dissolution. *J Pharm Sci*, 1980; 69: 1–4
17. Constantinides PP, Tustian A, Kessler DR. Tocol emulsions for drug solubilization and perenteral delivery. *Adv Drug Deliv Res Rev*, 2004; 56: 1243–1255
18. Coppens KA. Hypromellose, ethylcellulose, and polyethylene oxide use in hot melt extrusion. *Pharm Technol*, 2005; 30(1): 62–70
19. Dahl TC, Bormeth AP. Influence of physicochemical properties of hydroxypropyl methylcellulose on naproxen release from sustained release matrix tablets. *J Control Release*, 1990; 14: 1–10
20. Dean, John A. *The Analytical Chemistry Handbook*. New York. McGraw Hill, Inc. 1995. pp. 15.1–15.5
21. Delonca H, Joachim J, Mattha A. Influence of temperature on disintegration and dissolution time of tablets with a cellulose component as binder. *J Pharm Belg*, 1978; 33: 171–178
22. Delporte JP, Jaminet F. Influence of formulation of enteric coated tablets on the bioavailability of the drug. *J Pharm Belg*, 1976; 31: 263–276
23. Desrosiers P, Carlson E, Chandler W, Chau H, Cong P, Doolen R, Freitag C. High-throughput screening techniques for preformulation: salt selection and polymorph studies. *Acta Cryst A58 2003, Supplement; C9*
24. Dhawan S, Dhawan K, Varma M, Sinha VR. Applications of poly(ethylene oxide) in drug delivery systems. Part II. *Pharm Technol*, 2005; 29(9): 82–96
25. Dhawan S, Dhawan K, Varma M, Sinha VR. High molecular weight poly(ethylene oxide)-based drug delivery systems. Part I: hydrogels and hydrophilic matrix systems. *Pharm Technol*, 2005; 29(5): 72–74, 76–80

26. Dürig TJ. Advances in cellulose ether-based modified-release technologies. *Modified Release Drug Delivery Technology*. 2nd edn. 2008; 143–152.
27. Ehrhardt L, Patt L, Schindler E. Optimization of film coating systems. *Pharm Ind*, 1973; 35: 719–722
28. Elworthy PH, Patel MS. Demonstration of maximum solubilization in a polyoxyethylene alkyl ether series of non-ionic surfactants. *J Pharm Pharmacol*, 1982; 34: 543–546
29. Engblom P, Pulkkinen JO, Rantanen V, Hirvonen H, Kulmala J, Grønman R, Grønman S. Modulation of cisplatin pharmacodynamics by Cremophor EL: experimental and clinical studies. *Eur J Cancer*, 2002; 38: 205–213
30. Evrard B, Amighi K, Beten D. Influence of melting and rheological properties of fatty binders in the melt granulation process in a high sheer mixer. *Drug Dev Ind Pharm*, 1999; 25(11): 1177–1184
31. Fikentscher H, Herrle K. Polyvinylpyrrolidone. *Modern Plastics* 1945; 23(3): 157–161, 212, 214, 216, 218
32. Forster A, Hempenstall J, Tucker I, Rades T. Selection of excipients for melt extrusion with two poorly water-soluble drugs by solubility parameter calculation and thermal analysis. *Int J Pharm*, 2001 Sep 11; 226(1-2):147-61
33. Friberg SE, Lindmann B. Preparation of vesicles from hydrotope solutions. *J Dispersion Sci Technol*, 1998; 19(1): 19–30
34. Gardner CR, Walsh CT, Almarsson O. Drugs as materials: valuing physical form in drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 2004; 3(11):926-934
35. Gauger LJ. Hydroxyethylcellulose gel as a dinoprostone vehicle. *Am J Hosp Pharm*, 1984; 41:1761–1762
36. Gelderblom H, Verweij J, Nooter K, Sparreboom A. Cremophor EL: the drawbacks and advances of vehicle selection for drug formulation. *Eur J Cancer*, 2001; 37: 1590–1598
37. Ghebremeskel NA, Vemavarapu C, Lodaya M. Use of surfactants as plasticizers in preparing solid dispersions of poorly soluble API: Stability testing of selected solid dispersions. *Pharm Res*, 2006; 23: 1928-1936
38. Goldberg AH, Gibaldi M, Kaning JL. Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solutionsa and eutectic mixtures I, theoretical considerations and discussion of the literature. *J Pharm Sci*, 1965; 54: 1145-1148

39. Grove J, Thermes F, Rozier A, Plazonnet B. The effect of vehicle viscosity on the ocular bioavailability of 1 -653328. *Int J Pharm*, 1990; 66: 23–28
40. Gryczke A. Downstream processing of extrudates via pelletization, granulation and milling. APV experts, workshop on HME and its use in the manufacturing of dosage forms. Ludwigshafen, 2008
41. Guo JH, Skinner GW. Sustained release polymer blend for pharmaceutical applications. United States Patent No. 6,358,525 B1; 2002
42. Gupta MK, Goldman D, Bogner RH, Tseng YC .Enhanced Drug Dissolution and Bulk Properties of Solid Dispersion Granulated with a Surface Adsorbent. *Pharm Dev Tech*, 2001;6(4), 563-572
43. Hardy JG, Kennerley JW, Taylor MJ, Wilson CG, Davis SS. Release rates from sustained-release buccal tablets in man. *J Pharm Pharmacol*, 1982; 34 (Suppl.) 91P
44. Hilton AK, Deasy PB. Use of hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate in an enteric polymer matrix to design controlled-release tablets of amoxicillin trihydrate. *J Pharm Sci*, 1993; 82: 737–743
45. Hogan JE. Hydroxypropylmethylcellulose sustained release technology. *Drug Dev Ind Pharm*, 1989; 15: 975–999
46. Holzer AW, Sjogren J. Evaluation of some lubricants by the comparison of friction coefficients and tablet properties. *Acta Pharm Suec*, 1981; 18: 139–148
47. Iwata M, Ueda H. Dissolution properties of glibenclamide in combinations with polyvinylpyrrolidone. *Drug Dev Ind Pharm*, 1996; 22: 1161–1165
48. Jannin V, Musakhanian J, Marchaud D. Approaches for the development of solid and semi-solid lipid-based formulations. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008; 60(6): 734–746
49. Janssens S, Anne M, Rombaut P, Van den Mooter G. Spray drying from complex solvent systems broadens the applicability of Kollicoat IR as a carrier in the formulation of solid dispersions. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2009; 37, 241-248
50. Janssens S, de Armas HN, Remon JP, Van den Mooter G. The use of a new hydrophilic polymer, Kollicoat IR, in the formulation of solid dispersions of Itraconazole. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2007; 30: 288–294

51. Jeong YI, Ohno T, Hu Z. Evaluation of an intestinal pressure-controlled colon delivery capsule prepared by dipping method. *J Control Release*, 2001; 71: 175–182
52. Karande P, Mitragotri S. High throughput screening of transdermal formulations. *Pharm Res* , 2002;19(5):655-660
53. Khoo SM, Porter CJH, Charman WN. The formulation of Halofantrine as either non-solubilising PEG 6000 or solubilising lipid based solid dispersions: physical stability and absolute bioavailability assessment. *Int.J. Pharm.*2000.; 205, 65–78
54. Kim EK, Gao ZG, Park JS, Li H, Han K. rhEGF/HP- β -CD complex in poloxamer gel for ophthalmic delivery. *Int J Pharm*, 2002; 233: 159–167
55. Kolter K, Flick D. Structure and dry binding activity of different polymers, including Kollidon VA 64. *Drug Dev Ind Pharm*, 2000; 26(11): 1159–1165
56. Kovács B, Merényi G. Evaluation of tack behavior of coating solutions. *Drug Dev Ind Pharm*, 1990; 16(15): 2303–2323
57. Lee DY, Chen CM. Delayed pulse release hydrogel matrix tablet. United States Patent No. 6,103,263; 2000
58. Leuner C, Dressman J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2000; 50, 47–60
59. Li J, Xu Z. Physical characterization of a chitosan-based hydrogel delivery system. *J Pharm Sci*, 2002; 91(7): 1669–1677
60. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001; 46(1-3):3-26
61. Lipp R. Selection and use of crystallization inhibitors for matrix-type transdermal drug-delivery systems containing sex steroids. *J Pharm Pharmacol*, 1998; 50: 1343–1349
62. Lu G, Jun HW. Diffusion studies of methotrexate in carbopol and poloxamer gels. *Int J Pharm*, 1998; 160(1): 1–9
63. Malamataris S, Panagopoulou A. Controlled release from glycerol palmitostearate matrices prepared by dry-heat granulation and compression at elevated temperature. *Drug Dev Ind Pharm*, 1991; 17(13): 1765–1777
64. Malzert-Fréon A, Saint-Lorant G, Hennequin D, Gauduchon P, Poulain L, Rault S. *Eur J Pharm Biopharm*, 2010 Jun;75(2):117-27

65. Miralles MJ, McGinity JW, Martin A. Combined water-soluble carriers for coprecipitates of tolbutamide. *J Pharm Sci*, 1982; 71: 302–304
66. Mishra M, Muthuprasanna P, Prabha KS, Rani PS, Satish Babu IA, Chandiran IS, Arunachalam G, Shalini S. Basics and Potential Applications of Surfactants, A Review. *International Journal of PharmTech Research*, Dec 2009
67. Miyajima M. Pharmaceutical composition of dihydropyridine compound. United States Patent No. 4,983,593; 1989.
68. Moore T, Croy S, Mallapragada SK, Pandit NK. Experimental investigation and mathematical modelling of Pluromic F127 gel dissolution: drug release in stirred systems. *J Control Release*, 2000; 67: 191–202
69. Mueller-Goymann CC, Usselman BS. Solubilization of cholesterol in liquid crystals of aqueous systems of polyoxyethylene cetyl ethers. *Acta Pharm Jugosl*, 1988; 38(4): 327–329
70. Nakamichi K. Method of manufacturing solid dispersion. United States Patent No. 5,456,923; 1994
71. Nerurkar MM, Burton PS, Borchardt RT. The use of surfactants to enhance the permeability of peptides through Caco-2 cells by inhibition of an apically polarized efflux system. *Pharm Res*, 1996; 13(4): 528–534
72. Nicolaidis E, Symillides M, Dressman JB, Reppas C. Biorelevant dissolution testing to predict the plasma profile of lipophilic drugs after oral administration. *Pharm Res*, 2001; 18(3):380-388
73. Oh T, Bronich TK. Micellar formulations for drug delivery based on mixtures of hydrophobic and hydrophilic Pluronic (R) block copolymers. *J Control Release*, 2004; 94(10): 411–422
74. Okhamafe AO, York P. Moisture permeation mechanism of some aqueous-based film coats. *J Pharm Pharmacol*, 1982; 34 (Suppl.) 53P
75. Okonogi S, Puttipipatkachorn S. Dissolution improvement of high drug-loaded solid dispersion. *AAPS Pharm. Sci. Technol*, 2006; 7, E52
76. Parthasarathi G, Udupa N, Umadevi P, Pillai GK. Formulation and in vitro evaluation of vincristine encapsulated niosomes. *Indian J Pharm Sci*, 1994; 56(3): 90–94
77. Patell MK. Taste masking pharmaceutical agents. United States Patent No. 4,916,161; 1990

78. Patt L, Hartmann V. Solvent residues in film forming agents. *Pharm Ind*, 1976; 38: 902–906
79. Potluri RH, Bandari S, Jukanti R, Veerareddy PR. Solubility enhancement and physicochemical characterization of carvedilol solid dispersion with Gelucire 50/13. *Arch Pharm Res*, 2011 Jan;34(1):51-7. Epub 2011 Apr 6.
80. Pungor E. *A Practical Guide to Instrumental Analysis*. Boca Raton, Florida. 1995. pp. 181–191
81. Rakesh T, Giri A, Kumar T, Dulal Krishna T, Vishal J, Amit A. An Exhaustive Review on Solubility Enhancement for Hydrophobic Compounds by Possible Applications of Novel Techniques. *Trends in Applied Sciences Research*, 2012; 7: 596-619
82. Ran Y, Zhao L, Xu Q, Yalkowsky SH. Solubilization of cyclosporin A. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2001; 2(1): Article 2
83. Repka MA, McGinity JW. Influence of vitamin E TPGS on the properties of hydrophilic films produced by hot-melt extrusion. *Int J Pharm*, 2000; 202(1–2): 63–70
84. Repka MA, McGinty JW. Influence of chlorpheniramine maleate on topical hydroxypropylcellulose films produced by hot melt extrusion. *Pharm Dev Technol*, 2001; 6(3): 297–304
85. Rowe RC. The adhesion of film coatings to tablet surfaces, the effect of some direct compression excipients and lubricants. *J Pharm Pharmacol*, 1977; 29: 723–726
86. Rowe RC. The molecular weight and molecular weight distribution of hydroxypropyl methylcellulose used in the film coating of tablets. *J Pharm Pharmacol*, 1980; 32: 116–119
87. Saraiya K, Bolton S. Use of Precirol to prepare sustained release tablets of theophylline and quinidine gluconate. *Drug Dev Ind Pharm*, 1990; 16(13): 1963–1969
88. Sawicki W, Janicki S. Influence of polyoxyethylene-10-oleylether on in vitro verapamil hydrochloride penetration through mucous membrane from model buccal drug formulation. *STP Pharma Sci*, 1998; 8(2): 107–111
89. Seo MH, Oh HS, Lemmo AV, Ellis SJ, Heimlich K. A high throughput combinatorial approach for the discovery of a cremophor EL-free paclitaxel formulation. *Pharm. Res.*, 2003; 20, 1302–1308

90. Serajuddin ATM. Solid Dispersion of Poorly Water-Soluble Drugs: Early Promises, Subsequent Problems, and Recent Breakthroughs. *J Pharm Sci*, 1999; 88:1058-1066
91. Serajuddin, A.T. Solid dispersion of poorly water-soluble drugs: early promises, subsequent problems, and recent breakthroughs. *J. Pharm. Sci*, 1999; 88, 1058–1066
92. Shah AC, Britten NJ, Olanoff LS, Badalamenti JN. Gel-matrix systems exhibiting bimodal controlled release for oral delivery. *J Control Release*, 1989; 9: 169–175
93. Shimpi SL, Chauhan B, Mahadik KR. Stabilization and improved in vivo performance of amorphous etoricoxib using Gelucire 50/13. *Pharm Res*, 2005; 22(10): 1727–1734
94. Shin SC, Kim J. Physicochemical characterization of solid dispersion of furosemide with TPGS. *Int. J. Pharm*, 2003; 251, 79–84
95. Skinner GW, Harcum WW, Barnum PE. The evaluation of fine-particle hydroxypropylcellulose as a roller compaction binder in pharmaceutical applications. *Drug Dev In Pharm*, 1999; 25(10): 1121–1128
96. Skinner GW. Sustained release polymer blend for pharmaceutical applications. United States Patent No. 6,210,710 B1; 2001.
97. Skoog DA, Holler FJ, Nieman T. Principles of Instrumental Analysis. Fifth Edition. New York. 1998. pp. 905–908
98. Soliman MS, Khan MA. Preparation and in vitro characterization of a semi-solid dispersion of flurbiprofen with Gelucire 44/14 and Labrasol. *Die Pharm*. 2005; 60, 288–293
99. Stafford JW. Enteric film coating using completely aqueous dissolved hydroxypropyl methyl cellulose phthalate spray solutions. *Drug Dev Ind Pharm*, 1982; 8: 513–530
100. Streubel A, Siepmann J, Peppas NA, Bodmeier R. Bimodal drug release achieved with multi-layer tablets: transport mechanisms and device design. *J Control Release*, 2000; 69: 455–468
101. Stubberud L, Arwidsson HG, Hjortsberg V, Graffner C. Water–solid interactions.. Effect of glass transition temperature, T_g and processing on tensile strength of compacts of lactose and lactose/polyvinyl pyrrolidone. *Pharm Dev Technol*, 1996; 1(2): 195–204

102. Tabbakhian M, Tavakoli N, Jaafari MR. Enhancement of follicular delivery of finasteride by liposomes and niosomes. In vitro permeation and in vivo deposition studies using hamster flank and ear models. *Int J Pharm*, 2006; 323(1–2): 1–10
103. Tadmor Z, Klein I. Engineering principles of plastication extrusion. Van Nostrand Reinhold Co., New York, 1970.
104. Takada K, Oh-hashi M, Furuya Y. Enteric solid dispersion of ciclosporin A (CiA) having potential to deliver CiA into lymphatics. *Chem Pharm Bull*, 1989; 37: 471–474
105. Takatsuka S, Morita T, Horikiri Y, Yamahara H, Saji H. Influence of various combinations of mucolytic agent and non-ionic surfactant on intestinal absorption of poorly absorbed hydrophilic compounds. *Int J Pharm*, 2008; 349(1–2): 94–100
106. Takeichi Y, Baba K, Kinouchi Y, Iida Y, Umeno Y, Muranishi S, Nakai Y. Combinative improving effect of increased solubility and the use of absorption enhancers on the rectal absorption of uracil in beagle dogs. *Chem Pharm Bull*, 1990; 38: 2547–2551
107. Tezuka Y, Imai K, Oshima M, Ito K. ¹³C-NMR structural study on an enteric pharmaceutical coating cellulose derivative having ether and ester substituents. *Carbohydr Res*, 1991; 222: 255–259
108. Thoma K, Heckenmüller H, Oschmann R. Resistance and disintegration behaviour of gastric juice resistant drugs. *Pharmazie*, 1987; 42: 832–836
109. Verreck G, Vandecruys R, De Conde V, Baert L, Peeters J, Brewster M.E. The use of three different solid dispersion formulations. *J. Pharm. Sci.*, 2004; 93, 1217–1228
110. Wilson HC, Cuff GW. Sustained release of isomazole from matrix tablets administered to dogs. *J Pharm Sci*, 1989; 78: 582–584
111. Zhang H, Yao M, Morrison RA. Commonly used surfactant, Tween 80, improves absorption of P-glycoprotein substrate, digoxin, in rats. *Arch Pharm Res*, 2003; 26: 768–772

GLOSSARI I ACRÒNIMS

API	Principi Actiu Farmacèutic
BCS	Classificació Biofarmacèutica
BDS	Based Deactivated Silanes
DSC	Calorimetria d'escombrat diferencial
EMA	Agència Europea de Medicaments
FDA	Food and Drug Administration
FIS	Fluid Intestinal Simulat
GRAS	Generally Recognized as Safe
HEC	Hidroxi Etil Celulosa
HLB	Balanç Hidròfil Lipòfil
HPC	Hidroxipropil cel·lulosa
HPLC	Cromatografia Líquida d'alta pressió
HPMC	Hidroxipropilmetil cel·lulosa
HPMCAS	Hidroxipropilmetil cel·lulosa acetat succinat
HPMCP	Hidroxipropilmetil cel·lulosa ftalat
LSS	Lauril Sulfat Sòdic
NEQ	Nova entitat química
NF	National Formulary
PEG	Polietilenglicol
PEO	Òxid de polietilè
Polyox	Òxid de polietilè
PVDF	Poliviniliden difluoride
PVP	Polivinil Pirrolidona
PVP-VA	Polivinil Pirrolidona vinil acetat
SLS	Sodium Lauril Sulfate
TGA	Anàlisi Termo Gravimètric
THF	Tetrahidrofurà
TPGS	Tocoferil Polietilèn Glicol Succinat
UK	United Kingdom
USA	United States of America
USP	United States Pharmacopoeia
UV	Ultraviolat
UV/vis	Ultraviolat /visible
XRDP	Difracció de Raigs X de Pols

ARTICLES

El treball presentat en aquesta tesi doctoral ha donat lloc a la següent publicació:

IF= 3.



Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

International Journal of Pharmaceutics 351 (2008) 209–218

INTERNATIONAL JOURNAL OF
PHARMACEUTICS

www.elsevier.com/locate/ijpharm

Method for screening of solid dispersion formulations of low-solubility compounds—Miniaturization and automation of solvent casting and dissolution testing

Anant Shanbhag, Shelley Rabel¹, Ewa Nauka, Gemma Casadevall²,
Padmaja Shivanand, Gary Eichenbaum³, Paul Mansky^{*,4}

Oral Products R&D, ALZA Corporation, 1015 Joaquin Road, Mountain View, CA, USA

Received 20 May 2007; received in revised form 10 September 2007; accepted 27 September 2007
Available online 9 October 2007

Aquesta recerca ha format part d'una col·laboració amb el departament de recerca i desenvolupament del grup de productes orals de “ALZA Corporation”, durant una estada de cinc anys al centre de Mountain View, CA, USA. Es presenta una còpia de la publicació en aquesta secció:



Method for screening of solid dispersion formulations of low-solubility compounds—Miniaturization and automation of solvent casting and dissolution testing

Anant Shanbhag, Shelley Rabel¹, Ewa Nauka, Gemma Casadevall²,
Padmaja Shivanand, Gary Eichenbaum³, Paul Mansky^{*,4}

Oral Products R&D, ALZA Corporation, 1015 Joaquin Road, Mountain View, CA, USA

Received 20 May 2007; received in revised form 10 September 2007; accepted 27 September 2007

Available online 9 October 2007

Abstract

An efficient method has been developed for screening solid dispersion formulations that are intended to enhance the dissolution of poorly soluble compounds. The method is based on miniaturization and automation of sample preparation by solvent casting, and dissolution testing, in a 96-well plate format, using less than 0.1 mg of compound per well. To illustrate the method, six polymers and eight surfactants were screened, individually and in combination, for their ability to dissolve a compound with aqueous solubility of <1 µg/ml in simulated intestinal fluid. Screening was performed at an excipient/compound ratio of 10:1, and a polymer/surfactant ratio of 3:1 for ternary formulations. Sixteen of the 48 ternary formulations dissolved the compound to a level >100 µg/ml, i.e. at least a 100-fold increase over the aqueous solubility. A number of synergies were observed wherein the performance of a ternary formulation greatly exceeded that of either of the corresponding binary formulations. Thirteen 'hits' from screening were scaled up with melt methods, and ~2/3 of these showed comparable dissolution enhancement when tested at larger scale. Five of these were administered to rats, and the absolute oral bioavailability ranged from 10 to 23%, versus less than 1% for the unformulated compound.

© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Solid dispersions; Solubility; High throughput; Bioavailability; Surfactants; Dissolution

1. Introduction

Solid dispersions have been under investigation for several decades as a means to improve the bioavailability of BCS Class 2 compounds, i.e. compounds exhibiting high permeability but low solubility and/or dissolution rate (Leuner and Dressman, 2000; Serajuddin, 1999). Solid dispersions are most commonly formed either from a drug/excipient solution (by solvent evaporation) or from a homogeneous drug/excipient melt, via melt extrusion. In the final formulation, the compound may

be molecularly dispersed in the excipient matrix, or may be dispersed as fine nanocrystalline or amorphous particles which form during solvent evaporation or cooling of the melt. The matrix is typically a water-soluble polymer such as polyethylene oxide, polyvinyl pyrrolidone, or hydroxypropyl methyl cellulose. Solid dispersion formulations currently on the market include griseofulvin in poly(ethylene glycol) (Gris-PEG[®], Novartis), nabilone in povidone (Cesamet[®], Lilly), and itraconazole in poly(ethylene glycol) and hydroxyl propyl methyl cellulose (Sporanox[®], Janssen).

While hydrophilic polymers can be very effective solid-state stabilizers, extremely insoluble drugs will tend to re-crystallize upon exposure to the gastrointestinal milieu during dissolution (Leuner and Dressman, 2000; Serajuddin, 1999). Dispersion formulations based on semi-solid surfactants, such as Vitamin E TPGS (Shin and Kim, 2003) and Gelucire 44/14 (Soliman and Khan, 2005; Yuksel et al., 2003) have the potential to facilitate dissolution and inhibit precipitation in the GI tract as a

* Corresponding author. Tel.: +1 408 215 2844; fax: +1 408 215 2894.

E-mail address: pmansky@ilypsa.com (P. Mansky).

¹ Current address: Amgen Inc., South San Francisco, CA, USA.

² Current address: University of Barcelona, Spain.

³ Current address: Johnson & Johnson, Pharmaceutical Research & Development, LLC, Raritan, NJ, USA.

⁴ Current address: Relypsa, Inc., Santa Clara, CA, USA.

result of their solubilizing properties, but typically have much lower melting points and a greater degree of molecular mobility in the solid state than polymers. Therefore, formulations based on these excipients are anticipated to be less stable (Khoo et al., 2000) against recrystallization of the compound in the solid state. Semi-solids are also more difficult to process into an oral dosage form.

Formulations containing both a high- T_g water-soluble polymer and a surfactant potentially combine the better long-term stability of polymeric solid dispersion formulations with the enhanced dissolution and bioavailability of liquid or semi-solid surfactant-based formulations. Ghebremeskel et al. (2006) recently reported that addition of 10% surfactant to PVP- and HPMC-based solid dispersions of a low-solubility compound led to dramatic increases in dissolution rate, with little or no adverse effect on long-term physical stability. Okonogi and Puttipipatkachorn (2006) recently reported a similar enhancement of dissolution rate from PEG-based solid dispersions of ofloxacin when approximately 10% surfactant was included in the formulations. More generally, solid dispersions utilizing more than one excipient have the potential to allow fine-tuning of the formulation properties in order to achieve improved performance, in a manner which is not possible with single-excipient formulations. Six et al. (2004) investigated dispersions of itraconazole in a combination of two polymers (PVPVA64 and Eudragit E100) which differed in their miscibility with the drug and their dissolution rates, and found that the drug loading and dissolution rate of optimized ternary formulations were superior to those which could be achieved by binary formulations.

In all of the work reported so far on multi-excipient solid dispersions, however, only a small number of excipients and excipient combinations were studied in each case. Such focused studies of a small number of formulations allow for detailed characterization of formulation physical/chemical characteristics (e.g. studies of crystallinity and molecular interactions by DSC, XRD, and spectroscopic techniques). Given the large number of polymer and surfactant excipients available, however, the number of excipient combinations and ratios to be explored is large. Excipient selection and experimental design based on e.g. compound and polymer solubility parameters (Ghebremeskel et al., 2007) or surfactant HLB may provide a rationale for some

narrowing of the scope of formulations to be explored, but still leaves many possibilities to be evaluated; and also presumes that the theoretical models used to restrict the scope of experimentation are sufficiently accurate such that 'good' formulations will not be prematurely eliminated from experimental consideration. Therefore, there is clearly value in the development of efficient strategies for experimentally evaluating large numbers of compound/polymer/surfactant combinations – or more generally, ternary and higher-order solid dispersion formulations – in order to rapidly identify systems with synergistic interactions between the components, for subsequent in-depth study using traditional techniques.

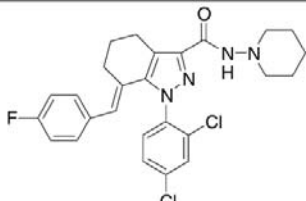
In this article, we describe a newly developed method for rapid initial screening of such formulations. The methodology is based on miniaturization and automation of formulation preparation by solvent casting, with high-throughput dissolution testing as the characterization method, and uses less than 0.1 mg of compound per sample tested. The method is illustrated by its application to a development-stage compound with aqueous solubility < 1 $\mu\text{g/ml}$. In order to evaluate the usefulness of the method, selected formulations identified through screening were prepared at larger scale by melt methods, and their *in vitro* dissolution behavior was determined. Some of these formulations were also evaluated *in vivo* (in rats) to assess the degree of bioavailability enhancement. The strengths, limitations, and most suitable applications of the method are also discussed.

2. Materials and methods

2.1. Materials

The chemical structure, molecular weight, aqueous solubility at pH 2 and 7, log P , melting point and Hildebrand solubility parameter of the model compound are presented in Table 1. The excipients used, and the suppliers, were: hydroxypropyl cellulose (HPC-SL, Nisso, Japan), hydroxypropyl methyl cellulose acetate phthalate (HPMCP 50, Shin-Etsu, Japan), Kollidon VA-64 (BASF, USA), Plasdane K29-32 (ISP, USA), Eudragit L100 and Eudragit RS100 (Rohm, USA), Vitamin E TPGS (Eastman Chemicals, TN, USA), Sodium lauryl sulfate (SLS) [Sigma-Aldrich, USA], Pluronic F127 NF (Poloxamer 407,

Table 1
Physicochemical properties of the compound

Compound	Structure	MW (g/mole)	Aqueous solubility ($\mu\text{g/ml}$)	Log P	Melting point ($^{\circ}\text{C}$)	Solubility parameter, δ (MPa ^{1/2})
JNJ-25894934		498.4	pH 2: 1, pH 7: <1	5.13	169	23.67

The melting point was measured by DSC. Aqueous solubilities were measured by the shake-flask method. The log P and solubility parameter were estimated computationally using Molecular Modeling Pro, Version 6, copyright 2005 by Norgwyn Montgomery Software Inc., North Wales PA.

BASF, USA), Crodesta F-160 and Crodesta F-110 (Croda, USA), Cremophor EL (BASF, USA), Volpo 10 (Croda, USA), Tween 80 (Sigma–Aldrich, USA).

The excipients were chosen to provide a diversity of structural and physical/chemical properties, and were not selected based on any specific hypotheses regarding the likely interactions of the formulation components. Other methods of selecting the excipients may of course be used in the context of this screening method. The polymers included cellulosic (HPC-SL, HPMCP) and acrylate-based (Eudragit L100, Eudragit RS100) materials, and materials carrying anionic (Eudragit L100, HPMCP), cationic (Eudragit RS100), and neutral hydrophilic (HPC-SL, Plasdone K29-32, Kollidon VA64) functionality, as well as varying amounts and types of hydrophobic functional groups. All of the surfactants were non-ionic, except for SLS, but still represent a wide diversity of hydrophilic and hydrophobic functional groups as well as surfactant architectures, molecular weights, and melting points.

All the solvents used (acetone, ethanol, *n*-propanol) were HPLC grade and obtained from JT Baker and company. Artificial intestinal fluid (AIF) was prepared as per USP29/NF 24S1, using monobasic potassium phosphate, and was adjusted to a pH of 6.8 ± 0.1 using sodium hydroxide or hydrochloric acid.

2.2. Methods

The different stages of experimentation which make up the present study are illustrated schematically in Fig. 1, and are described in detail below.

2.2.1. Screening method: solvent casting

For the screening experiments, all liquid handling operations were performed with a Tecan Genesis Freedom 200 liquid handling system (Tecan, Durham, NC, USA), using Tecan disposable tips made of electrically conducting polymer

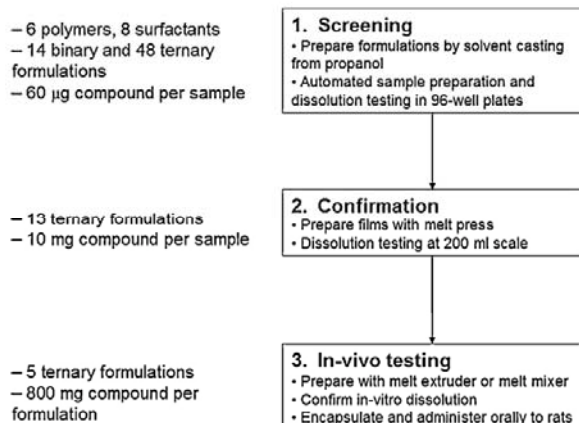


Fig. 1. Schematic illustration of the different stages of experimentation. At each subsequent stage, fewer samples are examined; the samples are larger and more compound is used per sample; and the formulation preparation and characterization methods become more relevant to traditional scale formulation development work.

	No polymer	Polymer 1	Polymer 2	Polymer 3
Surfactant 1				
Surfactant 2				
Surfactant 3				
Surfactant 4				
Surfactant 5				
Surfactant 6				
Surfactant 7				
Surfactant 8				

Fig. 2. Plate map used for screening of polymer/surfactant formulations and the corresponding surfactant-only formulations. All formulations were prepared in triplicate within a plate. Columns 1–3 contain only surfactant and compound, while all other wells contain polymer, surfactant, and compound. The total amount of excipient per well is 0.6 mg for all formulations, and the polymer:surfactant ratio is 3:1 for all polymer/surfactant formulations. Each well contains 60 µg of compound.

composite. Formulations were prepared, diluted, and incubated in ScienceWare 96-well deep well microtiter plates (Bel-Art Products, Pequannock, NJ, USA). Excipient and drug stock solutions were prepared in acetone: ethanol (1:1). This solvent mixture was chosen because it dissolved the widest range of polymers which were of interest. Stock solutions containing single excipients were prepared at a concentration of 2 mg/ml, while the compound stock solution was prepared at a concentration of 0.2 mg/ml. For preparing polymer/surfactant formulations, the liquid handling robot was used to dispense 225 µl of polymer stock solution, 75 µl of surfactant stock solution, and 300 µl of drug stock solution to each well, corresponding to an total excipient:compound ratio of 10:1. Formulations containing only polymer or only surfactant, in combination with the compound, were prepared using 300 µl of a single excipient stock solution and 300 µl of compound stock solution. For all formulations tested, the excipient mass per well was 0.6 mg, and the compound mass per well was 60 µg. There were three replicates prepared for each formulation tested, prepared in adjacent wells. An example of a plate map used in the screening experiments is shown in Fig. 2.

After dispensing, the plates were briefly vortexed to thoroughly mix the stock solutions, and the solvent was then evaporated using a vacuum centrifuge (Genvac® HT-4X with Genvac® CVP-100 vacuum pump, Genvac, Suffolk, UK). The rotor speed was 1300 rpm, the temperature set point for the swings was 40 °C, and the pressure set point was 5 psi. Temperature control was necessary to prevent the solvent from cooling excessively during evaporation. The majority of solvent under these conditions was removed within about 1.5 h, and the total run time was 2.5 h. At the conclusion of the evaporation run, each well in the microtiter plate contains a pellet or film of formulation at the bottom (total mass = 0.66 mg). The plates were immediately sealed with adhesive foil and held at room temperature overnight prior to dissolution testing. This was done in order to give the most unstable formulations an opportunity to begin to recrystallize. Longer storage times and accelerated storage conditions can also be used prior to dissolution testing,

to assess the longer-term stability of the formulations as part of the screening process.

2.2.2. Screening method: dissolution testing

The dissolution test was performed by adding 300 μ l of SIF (pH 6.8) to each well, and then gently vortexing the microtitre plate on an orbital shaker for period of 1 h at room temperature. Although it is expected that dissolution/precipitation kinetics will vary significantly between formulations, requiring a high concentration of dissolved drug after 1 h is a reasonable and efficient screening criterion. The contents of each well were then transferred to a 0.2 μ m PVDF membrane filter plate (Corning, New York, USA). The samples were pulled through the filter using vacuum and the filtrate was collected in collection plates (Varian, Inc., Palo Alto, CA). One hundred and fifty microliters of the filtrate was then transferred to a deep-well plate (Varian) and thoroughly mixed, by repeated pipetting, with 150 μ l of *n*-propanol. Dilution of the filtrate with *n*-propanol prevents any further precipitation of the compound before analysis, and also eliminates any residual turbidity from fine aggregates or particles, which pass through the filter. This last step is essential for accurate analysis of compound concentration by UV absorption, in the presence of excipients, in order to eliminate any residual light scattering, which would otherwise interfere with the measurement.

Two hundred microliters of the diluted filtrate was then transferred to a UV measurement plate (Corning, New York, USA) for immediate analysis. The optical density (OD) was measured at 320 nm using a Spectramax 386 plate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). This wavelength was chosen after an examination of the UV spectra for all of the excipients used, which showed that none of the excipients had significant UV absorption at 320 nm, in comparison to the strong absorbance by the compound. The background OD due to absorbance by the plate and the buffer/propanol mixture was determined in a separate experiment and subtracted, and the corrected OD values were converted to compound concentration (μ g/ml) using a calibration curve. Using the above procedure, we have previously demonstrated excellent correlation ($R^2 > 0.998$) between the compound concentration as determined by UV and HPLC methods (Mansky et al., 2007), for samples of filtered formulations, which were split for analysis by both methods.

2.2.3. Melt compression: film preparation

Thirteen formulations from the screening experiments were scaled up from 0.6 to 100 mg using a melt-press method. A blend of compound and excipients (0.5 g) was prepared by geometric mixing using a mortar and pestle. The blend was placed between two sheets of plastic release liner (3M, St. Paul, MN) made of siliconized polystyrene. A stainless steel shim with a 2 in. \times 2 in. square aperture was placed between the two sheets of release liner to control the film thickness to approximately 0.25 mm. The films were compressed using a Carver[®] hydraulic heated press (Model: Carver M25T, Carver Inc., Wabash, IN). The compression conditions were determined in advance for each blend using a placebo excipient mixture. Generally a force of 1500 lbs and dwell time of 30 s was used, while maintaining the tem-

perature approximately 20 ± 5 °C above the reported softening point of the polymer. The conditions were adjusted in order to produce consolidation of the powders to a homogeneous film during the compression. (This was achieved for all of the polymers except Eudragit L100, which did not flow and consolidate well, even above the softening point, resulting in somewhat fragile films with a grainy, non-uniform structure.) The film samples were stored overnight at room temperature prior to dissolution testing. To prepare the final samples for dissolution testing, a 2.5 cm diameter punch was used to obtain round films weighing between 95 and 105 mg. The measured weights were used for calculating % dissolved from the dissolution data.

2.2.4. Melt compression: dissolution testing

The films were mounted on disk shaped sample holders using plastic gauze and tested for release using a modified USP type VII apparatus. The dissolution medium was 200 ml of SIF at 37 °C. One milliliter aliquots were sampled at 0, 5, 15, 30 and 60 min, centrifuged to separate solids, and the supernatant was analyzed by an Agilent HPLC system equipped with UV detector. The column used was a Thermo Hypersil BDS C18, 50 mm \times 4.6 mm, 5 μ m, and the mobile phase was 50 mM ammonium formate (pH 3.3):acetonitrile (40:60, v/v). The flow rate was 1.5 ml/min. The column temperature was maintained at 35 °C and the compound in the effluent was detected at 260 nm using the UV detector.

2.2.5. Sample preparation for oral bioavailability studies

Five formulations from the melt press *in vitro* dissolution experiments were further scaled up for oral bioavailability testing in rats. Three of these formulations were prepared using an 8 cm³ Dispersion Melt Mixer (designed and manufactured at ALZA), which is similar to the Type Six mixer manufactured by C.W. Brabender[®]. The batch size was 8 g, consisting of polymer, surfactant, and compound in the weight ratio 75:25:10. Processing time was 5–10 min, at the same temperature used in the melt press for each formulation. Two of the formulations were scaled up for *in vivo* studies using a HAAKE PolyLab Twin-Screw Extruder (Thermo Electron Corporation, Waltham, MA). The batch size was 8 g and the temperature was the same as that used in the melt press. The speed was maintained at 100 rpm, the samples were processed for 10 min with recirculation. After cooling to room temperature, each sample was ground briefly (<1 min) in a food processor, to convert the large/solid pieces of cooled melt to powders, and was dosed within 24 h of preparation. The ground formulations were not sieved prior to administration.

2.2.6. In vivo pharmacokinetic studies of selected formulations

A pharmacokinetic study was conducted in male Sprague–Dawley rats ($n=6$ per group) with selected formulations. Rats in the weight range of 350–400 g were supplied by Charles River Laboratories (Hollister, CA). Rats were fasted overnight, water was provided ad libitum, and the animals were anesthetized with 3% isoflurane inhalant anesthesia immediately before dosing. The solid dispersion formulations were dosed at 3 mg/kg in one or two size nine gelatin capsules

(Torpac Inc., NJ, USA) using a modified 14-gauge gavage needle. Two hundred microliters of water was administered by oral gavage following the administration of the capsules. The animals recovered within 5 min after dosing and were alert throughout sampling.

Unformulated crystalline drug was dosed to one group in a manner identical to the solid dispersion formulations, as a negative control. As a positive control, an oral solution formulation consisting of 2 mg/ml compound in *N*-methylpyrrolidone:Vitamin E TPGS (1:2, v/v) was administered to one group. This had previously been identified as a high bioavailability vehicle for use in pre-clinical animal studies, but is unsuitable for clinical use due to the high NMP content. The solution formulation was given to rats via oral gavage. Both the positive and negative controls were administered at 3 mg/kg. In order to determine absolute bioavailability, an intravenous (IV) formulation of ethanol:solutol:compound (48:48:4, w/w) was prepared, diluted in saline prior to injection to provide a 2 mg/ml compound concentration, and dosed at a level of 2 mg/kg.

Blood was collected into sodium heparinized syringes at 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, and 8 h. Plasma was transferred to cryovials and placed on dry ice followed by storage at -80°C until analysis was performed. 100 μl of the plasma sample was transferred to a 2 ml centrifuge tube and 500 μl of JNJ-25894934 internal standard (1 ng/ml acetonitrile solution) was added. The tubes were vortexed for 4 min and centrifuged at 14,000 rpm for 5 min. 500 μl of supernatant was transferred to 96-well plate. A 10 μl aliquot was injected into the API 4000 LC/MS/MS system. The column used was a MetaChem Polaris, 3 μm C18-A 100 mm \times 3.0 mm and the mobile phases consisted of 10 mM ammonium acetate in deionized water and acetonitrile. A gradient flow was used to deliver a flow rate of 0.42 ml/min. The column temperature was maintained at 22°C . The effluent was detected using an Applied Biosystems API 4000 triple quadrupole mass spectrometer equipped with a positive Turbo ion spray source. The source temperature was set at 550°C and the ion spray voltage was 5500 V. The system was operated in the multiple reaction-monitoring mode (MRM). The parent/product ion pairs (m/z) focused were 499.3/399.2 for JNJ-25894934 and 463.1/363.0 for internal standard. The concentration was calculated using weighted linear regression analysis of peak areas from the standard curve. The calibration range was 1–1000 ng/ml and the lowest limit of quantification were 1 ng/ml. Pharmacokinetic parameters such as C_{max} , T_{max} , $\text{AUC}_{(0-8\text{h})}$, and absolute bioavailability were determined. The AUC from 0–8 h was determined using the linear trapezoidal method.

3. Results

3.1. Screening method

Fig. 3 depicts the results of the screening experiments. The results are presented as the percentage of the total compound dissolved per well after 1 h incubation. A value of 100% dissolved corresponds to a compound concentration of 200 $\mu\text{g/ml}$, i.e. approximately 200 times higher than the compound's aqueous

		Surfactant								
		None	SLS	Poloxamer 407	Crodesta F110	Crodesta F160	Tween 80	Vitamin E TPGS	Volpo 10	Cremophor EL
Polymer	None	0	0	1	8	31	56	85	87	89
	Eudragit RS100	0	5	1	0	0	3	1	3	13
	Kollidon VA 64	0	<u>48</u>	21	31	<u>70</u>	32	<u>52</u>	64	18
	Plasdone K29/32	0	17	20	14	<u>59</u>	72	<u>56</u>	66	<u>79</u>
	HPC SL	4	<u>65</u>	0	22	<u>36</u>	4	<u>54</u>	44	17
	Eudragit L100	17	4	<u>59</u>	40	<u>56</u>	50	<u>59</u>	62	<u>70</u>
	HPMCP 50	20	5	1	18	39	8	<u>43</u>	64	38

Fig. 3. Summary of the results of the screening experiments. The grid does not have any spatial correspondence to the plate map shown in Fig. 2. The number in each cell is the average value of % dissolved after 1 h of incubation in SIF ($n = 3$ or 6). The color of the cells indicates whether % dissolved was <25% (orange), between 25% and 50% (yellow), or >50% (green). The top row contains the results for surfactant-only formulations; the left column contains the results for polymer-only formulations; the upper left corner contains the results for unformulated compound (no excipients) which was processed by solvent casting in an otherwise identical manner to the formulations; and the remaining cells contain the results for polymer/surfactant formulations. The 13 formulations that were scaled up using the melt press method are identified by the use of a bold/underlined font (e.g. **79**) for % dissolved. Standard deviations are not shown, but were generally less than 5%, see Section 3.1.

solubility of <1 $\mu\text{g/ml}$. The color of each cell in Fig. 3 indicates whether % dissolved is <25% (orange), between 25 and 50% (yellow), or >50% (green). Numbers in a bold font and underlined (e.g. **79**) indicate formulations which were subsequently scaled up using the melt press. The number of samples prepared and tested was $n = 3$ for all polymer/surfactant/compound (ternary) formulations, and $n = 6$ for all polymer/compound and surfactant/compound (binary) formulations. Standard deviations for percent dissolved are not shown in Fig. 3, but in most cases were less than 5% (55 of 63 formulations tested), indicating a very high degree of reproducibility. Five formulations in the screening experiments had standard deviations between 15–35% dissolved. Previous studies of precipitation kinetics for surfactant-only formulations, using the same screening method, have shown that large standard deviations are observed for formulations which are in the midst of precipitating at the time of sampling and measurement (Mansky et al., 2007).

The data are arranged so as to clearly illustrate the relationships between the percent dissolved for the ternary formulations and that for the corresponding pair of binary formulations. The data are arranged as a matrix, with each row corresponding to a polymer and each column corresponding to a surfactant. The left-most column contains data for the polymer-only formulations, and the top row contains the data for the surfactant-only formulations. The polymers and surfactants have been arranged in order of increasing % dissolved for the single-excipient (binary) formulations. The remaining cells contain data for the ternary formulations, with the polymer and surfactant corresponding to the row and column, respectively.

Samples that contained no excipients at all, i.e. which contained only 60 µg of compound, were also prepared using the solvent casting method, to determine whether solvent casting itself might lead to enhanced dissolution/solubility, e.g. by formation of amorphous precipitates during solvent casting and a stable supersaturated solution after dissolution. The compound concentration in these samples, after dilution and 1 h of incubation in SIF, was below the detection limit (0%, upper left corner in Fig. 3). This indicates that solvent casting in the absence of excipients does not result in increased compound concentration under the conditions of the experiment.

Three of the surfactants stood out for their ability to increase the dissolution of the compound, when used without a polymer—Vitamin E TPGS, Cremophor EL, and Volpo 10, which gave 85–89% dissolved at 1 h. However, given the non-equilibrium nature of the solvent casting process, the liquid or semi-solid character of these excipients, and the high compound loading level, it is doubtful that these formulations would have good long-term stability to compound recrystallization. Polymers with high T_g are more likely to provide such stability, but for the best-performing compound/polymer formulations (containing only compound with HPMCP 50 or Eudragit L100), the compound was only 20 and 17% dissolved, respectively. It is interesting to note that both of these are enteric coating polymers, carrying carboxylic acid functionality on a backbone which has a partially or wholly hydrophobic character.

Of the 48 ternary formulations screened, 16 dissolved in excess of 50% of the compound after 1 h of incubation (concentration > 100 µg/ml), and 10 dissolved between 25 and 50% of the compound (concentration between 50 and 100 µg/ml). The ternary formulations giving >25% dissolved (yellow or green cells in Fig. 3) can be further divided into two categories. Some contain surfactants which are effective solubilizers when used on their own, such as Cremophor EL, Vitamin E TPGS, and Volpo 10; and the % dissolved, although high, is less than the value for the corresponding surfactant-only formulation. These formulations are on the right side of Fig. 3. In cases such as this, the performance of the ternary formulation seems to primarily reflect the performance of the surfactant—particularly for TPGS and Volpo 10, for which the choice of polymer seems to make little difference. For Tween 80 and Cremophor EL, there is a greater dependence on the choice of polymer, indicating that synergistic effects may be more important in these cases.

Other ternary formulations contain surfactants with mediocre or poor performance (i.e. <25% dissolved) when used alone, such as SLS, Poloxamer 407, and Crodesta F160, but the ternary formulations' performance greatly exceeds that of the corresponding surfactant-only and polymer-only formulations. A striking example of this is the combination of Kollidon VA64 and SLS. Both give 0% dissolved when used individually, but 48% dissolved when combined. Other formulations of this type are SLS/HPC SL, Poloxamer 407/Eudragit L100, and Crodesta F160 combined with Eudragit L100, Kollidon VA64, or Plasdane K29/32. Thus, by systematically screening polymer/surfactant combinations, it is possible to quickly identify potentially effective formulations whose performance could not have been anticipated based on the performance of the individual

components. The occurrence of 'synergy' in such formulations is unambiguous. These are not only interesting scientifically, but provide additional options for further formulation development.

3.2. Formulations scaled up by melt compression

Thirteen 'hits' identified from the screening study were further studied at larger scale by measuring the dissolution of melt-compressed films. The criteria applied in selecting the formulations for scale up were not strictly defined, but generally comprised two requirements: (1) the surfactant is a solid or semi-solid, which should favor the stability of the formulation and (2) the % dissolved at 1 h in screening exceeds 50%. Eleven of the scaled up formulations met the first criterion, ten met the second criterion, and eight met both criteria.⁵

Percent drug dissolved at 1 h for the melt-pressed samples is presented in Table 2, along with the corresponding screening data (with standard deviations) for comparison. Due to limited compound availability, melt-compressed samples were prepared and tested as either duplicates or single samples. For samples which were tested in duplicate, the two independent measurements of percent dissolved at a particular time point agreed to better than 10% in all cases. Although there is not a rank order correlation between the results from screening and the melt press, the screening method successfully identified multiple formulations which, when prepared by the melt press method, increased the compound concentration from 1 µg/ml to the range 50–150 µg/ml. Of 13 melt-press formulations tested, 9 dissolved >25% of the compound after 1 h of incubation; and 4 dissolved between 50 and 75%.

3.3. In vivo pharmacokinetic studies

Five of the 13 melt-pressed formulations were further scaled up using a melt mixer or melt extruder (see Section 2). These formulations were dissolution tested to confirm their effectiveness at dissolving JNJ-25894934 prior to proceeding to *in vivo* studies, and the % dissolved at 1 h is listed in Table 2 alongside the screening and melt press results. Due to limited compound availability, melt-compressed samples were prepared and tested as either duplicates or single samples. For samples which were tested in duplicate, the two independent measurements of percent dissolved at a particular time point agreed to better than 10% in all cases. These formulations were then orally administered to rats to determine whether the *in vitro* enhancement of dissolution would translate into improved bioavailability *in vivo*. Crystalline compound in a capsule and a solution formulation (Vitamin E TPGS/NMP) were also administered, as negative and positive controls, respectively. The plasma serum concentration curves are presented in Fig. 4, and the PK parameters determined from analysis of this data are presented in

⁵ Formulations consisting of polymer plus liquid surfactant may still be suitable for use as vehicles for pre-clinical *in vivo* studies, but should be excluded from screening in future work if the sole objective is identification of potential clinical or commercial formulations.

Table 2
Summary of *in vitro* dissolution data from screening and melt-press samples

Formulation	% dissolved, 1 h			Absolute BA, % (n = 6)
	Screening (n = 3)	Melt press (n = 1 or 2)	Melt mixer/extruder (n = 1 or 2)	
JNJ-25894934 (crystals in capsule)				0.5 (0.2)
IV				100 (1)
Oral solution, VitETPGS:NMP				27 (6)
HPMCP:VitETPGS	43 (1.7)	69	87	23 (7)
HPC-SL:VitETPGS	54 (0.2)	34	61	10 (4)
PVPVA:SLS	48 (1.5)	70	40	14 (2)
PVPVA:VitETPGS ^a	52 (7.2)	62	99	12 (4)
PVPVA:Crodesta F-160	70 (0.9)	70	87	16 (12)
Eudragit L100:CRODESTA F160	56 (0.8)	7		
Eudragit L100:CREMPHOR EL	70 (2.0)	19		
Eudragit L100:POLOXAMER 407	59 (3.0)	42		
Eudragit L100:VitETPGS	59 (4.9)	18		
HPC-SL:CRODESTA F160	36 (2.0)	40		
PVP:CRODESTA F160	59 (1.0)	34		
PVP:VitETPGS	56 (0.4)	16		
PVP:CREMPHOR EL	79 (8.7)	45		

The polymer:surfactant ratio was 3:1 (by weight) for all polymer/surfactant formulations. The compound content in the solid dispersion formulations was 10 wt%, except for PVPVA/TPGS (7 wt%). The absolute BA is included in the last column for those formulations that were scaled up and administered orally to rats. Numbers in parentheses are standard deviations. Standard deviations are not reported for *in vitro* dissolution of melt processed samples as only one or two samples were prepared and tested for each formulation. When tested, replicates agreed to better than 10% in all cases.

^a 7.7% drug loading.

Table 3. The absolute bioavailability data are also presented graphically in Fig. 5, and are included in Table 2 for direct comparison with the *in vitro* dissolution test results from solvent-cast (screening) and melt pressed films. The absolute BA for the crystalline compound powder and the oral solution formulations was 0 and 27%, respectively, while the absolute BA for the solid dispersion formulations ranged from 10 to 23%.

There was no statistically significant difference between the bioavailability of the various solid dispersion formulations tested, with the exception of the HPMCP/TPGS formulation versus HPC/TPGS, PVPVA/SLS and PVPVA/TPGS ($p < 0.05$). For all other pair-wise comparisons of bioavailability, $p > 0.05$. Thus, there were only limited differences in bioavailability despite differences of as much as a factor of 2 in % dissolved *in vitro* at 1 h. We note that obtaining *in vitro/in vivo* correlation for solid dispersion formulations of Class 2 compounds is a challenging task (Verreck et al., 2004), irrespective of any issues specific to the high throughput screening methodology presented here.

4. Discussion

In order to be useful, a high throughput (HT) technique must at least be able to (1) prepare and test many more systems (molecules, materials, or formulations) per unit time than would be possible with traditional techniques, e.g. by a factor of 10 or more; (2) identify with acceptable accuracy those systems which are worthy of further study using more resource-intensive traditional techniques (i.e. a screening method must have a reasonably low rate of false positives and false negatives); and (3) use a minimal quantity of the drug substance compared to traditional methods. If these criteria are met, then the HT technique may be used as a 'front end' to traditional experimentation. More predictive and resource-intensive traditional techniques can then be applied to the study of systems which have been pre-selected through high-throughput screening, and which are therefore both more diverse and more likely to succeed than would otherwise be the case.

Table 3
Summary of the PK parameters derived from the plasma concentration data in Fig. 5

Formulation	Absolute BA (%)	C_{max} (ng/ml)	T_{max} (h)	AUC (ng h/ml), 0–8 h
JNJ-X crystals in capsule	0.5 (0.2)	2.8 (1)	4.0 (1.6)	14 (1)
IV	100 (1)	2990 (349)	<1 (1.6)	1789 (10)
Oral solution	27 (6)	138 (26)	3.2 (2.6)	832 (193)
HPMCP/VitETPGS	23 (7)	227 (105)	2.0 (1.1)	620 (197)
PVPVA/Crodesta F-160	16 (12)	144 (368)	2.3 (2.8)	432 (333)
PVPVA/SLS	14 (2)	84 (116)	4.0 (1.3)	369 (61)
PVPVA/VitETPGS	12 (4)	103 (77)	2.0 (1.6)	308 (107)
HPC-SL/VitETPGS	10 (4)	58 (59)	4.3 (0.8)	278 (158)

Numbers in parentheses are standard deviations (n = 6 animals per group).

vent casting to melt preparation to be a strong indication of the utility of the screening technique. We have further tested the predictive value by selecting five formulations for preparation at larger scale by melt extrusion or melt mixing, and determining the oral bioavailability in rats. The bioavailability of all formulations tested exceeded that of the unformulated compound by at least a factor of 20, although there was not a rank order correlation between *in vitro* and *in vivo* performance. Therefore, the methodology appears to hold great promise for rapid initial screening of polymer/surfactant solid dispersion formulations.

Several issues will need to be studied in order to further develop this screening method. First, the solvent used for casting of the solid dispersion formulations can be expected to have a potentially important impact on the physical state of the resulting solid formulations and their dissolution behavior. A variety of solvents should be studied in combination with a single large set of formulations, to determine how much of an impact the choice of solvent may have. One may even contemplate routinely using several different solvents in screening, i.e. preparing additional replicate formulations with different casting solvents, in order to minimize the chances of missing a promising formulation due to solvent effects. With suitable liquid handling/automation, low compound use per well, and the use of a UV/vis plate reader for analysis, the additional number of experiments could easily be accommodated.

Another issue which should be addressed systematically is formulation physical stability in the solid state, which is typically one of the most significant challenges for solid dispersions. Once initial screening has been done, selected formulations can be re-prepared in the screening format and subjected to accelerated stability testing, e.g. by exposing microtiter plates containing the formulations to elevated temperature and humidity conditions, before repeating dissolution testing. Alternatively, stability of 'hit' formulations may be addressed in a more conventional way using samples subsequently prepared by melt extrusion.

In the present study, we have not made any effort to determine the frequency of 'false negatives' produced by the screening method. A false negative in this context is a formulation which performs well when produced by a manufacturing process such as melt extrusion or spray drying, but does not show up as a "hit" in screening. This issue should be systematically studied by selecting multiple formulations which performed poorly in screening, and scaling them up by melt extrusion to determine whether a significant number of good formulations were missed by the screening technique. An alternative approach to searching for false negatives is to select formulations which are already known to be successful when prepared by melt extrusion or spray drying, and prepare and test them using the screening methodology.

Finally, there is considerable room for modifying *in vitro* testing conditions for improved *in vivo* correlation. However, this issue is not specific to the screening methodology described in this paper, and is a general one for formulation of low-solubility compounds. The goal of improved IVIVC is being actively pursued by many researchers, using approaches such as the development and use of bio-relevant dissolution media

(Dressman and Reppas, 2000; Nicolaidis et al., 1999, 2001), and the combination of dissolution/precipitation and permeability testing in a single experiment (Corti et al., 2006; Wexler et al., 2005). The issues of improved IVIVC on the one hand, and miniaturization and automation on the other hand, are independent to a significant extent, and it would be valuable to ultimately combine the best practices of both approaches in a single assay format.

5. Conclusions

We have developed an efficient method for screening solid dispersion formulations of Class 2 compounds by solvent casting and dissolution testing. The method uses miniaturization, parallel processing, and automation to increase the efficiency, throughput, and scope of the initial screening stages of formulation development, and appears to be particularly useful for screening of ternary and higher-order systems (compound plus two or more excipients). The potential value of the method was evaluated by systematically studying all binary and ternary formulations of a development-stage compound with six polymers and eight surfactants. Some of the 'hits' identified by the screening method appeared to derive their improved performance primarily from the high solubilizing power of the surfactant, while others clearly involved strong synergistic interactions between the polymer, surfactant, and compound. Selected formulations were scaled up using melt methods, and evaluated through *in vitro* dissolution testing and *in vivo* determination of bioavailability in rats. The screening method was quite successful in identifying formulations which significantly enhanced dissolution and bioavailability. Bioavailability in rats ranged from 10 to 23% for the solid dispersion formulations identified by the screening method, versus 0.5% for unformulated (crystalline) compound.

Although the methodology clearly requires further evaluation and development, the data presented here therefore suggest that this screening method is potentially quite useful as a 'front end' for traditional formulation development—i.e. a method for rapidly surveying large numbers of excipients and their combinations and selecting promising formulations for more intensive study with traditional techniques.

Acknowledgements

The Authors would like to acknowledge Yaodong Xu, Joe Nguyen and Juli-Anne Evans from the bioanalysis and physiological systems department for conducting the *in vivo* studies, and Klaus Daehne from Information Management Systems at ALZA Corporation for developing and supporting the database and data management templates.

References

- Chen, H., Zhang, Z., McNulty, C., Olbert, C., Yoon, H.J., Lee, J.W., Kim, S.C., Seo, M.H., Oh, H.S., Lemmo, A.V., Ellis, S.J., Heimlich, K., 2003. A high-throughput combinatorial approach for the discovery of a cremophor EL-free paclitaxel formulation. *Pharm. Res.* 20, 1302–1308.

- Corti, G., Maestrelli, F., Cirri, M., Zerrouk, N., Mura, P., 2006. Development and evaluation of an in vitro method for prediction of human drug absorption II. Demonstration of the method suitability. *Eur. J. Pharm. Sci.* 27, 354–362.
- Desrosiers, P., Carlson, E., Chandler, W., Chau, H., Doolen, R., Freitag, C., 2002. High throughput screening techniques for pre-formulation: salt selection and polymorph studies. *Acta Cryst.* A58, C9.
- Dressman, J.B., Reppas, C., 2000. In vitro-in vivo correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs. *Eur. J. Pharm. Sci.* 11, S73–S80.
- Ghebremeskel, A.N., Vemavarapu, C., Lodaya, M., 2006. Use of surfactants as plasticizers in preparing solid dispersions of poorly soluble API: stability testing of selected solid dispersions. *Pharm. Res.* 23, 1928–1936.
- Ghebremeskel, A.N., Vemavarapu, C., Lodaya, M., 2007. Use of surfactants as plasticizers in preparing solid dispersions of poorly soluble API: selection of polymer-surfactant combinations using solubility parameters and testing the processability. *Int. J. Pharm.* 328, 119–129.
- Kalaiselvan, R., Mohanta, G.P., Manna, P.K., Manavalan, R., 2006. Inhibition of albendazole crystallization in poly(vinylpyrrolidone) solid molecular dispersions. *Die Pharm.* 61, 618–624.
- Khoo, S.-M., Porter, C.J.H., Charman, W.N., 2000. The formulation of Halofantrine as either non-solubilising PEG 6000 or solubilising lipid based solid dispersions: physical stability and absolute bioavailability assessment. *Int. J. Pharm.* 205, 65–78.
- Leuner, C., Dressman, J., 2000. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 50, 47–60.
- Mansky, P., Dai, W., Li, S., Pollock-Dove, C., Daehne, K., Dong, L., Eichenbaum, G., 2007. Screening method to identify preclinical liquid and semi-solid formulations for low solubility compounds: miniaturization and automation of solvent casting and dissolution testing. *J. Pharm. Sci.* 96, 1548–1563.
- Monisette, S.L., Almarsson, O., Peterson, M.L., Remenar, J.F., Read, M.J., Lemmo, A.V., Ellis, S., Cima, M.J., Gardner, C.R., 2004. High-throughput crystallization: polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 56, 275–300.
- Nicolaiades, E., Galia, E., Efthymiopoulos, C., Dressman, J.B., Reppas, C., 1999. Forecasting the in vivo performance of four low solubility drugs from their in vitro dissolution data. *Pharm. Res.* 16, 1876–1882.
- Nicolaiades, E., Symillides, M., Dressman, J.B., Reppas, C., 2001. Biorelevant dissolution testing to predict the plasma profile of lipophilic drugs after oral administration. *Pharm. Res.* 18, 380–388.
- Okonogi, S., Puttipipatkachorn, S., 2006. Dissolution improvement of high drug-loaded solid dispersion. *AAPS Pharm. Sci. Technol.* 7, E52.
- Sarisuta, N., Kumpugdee, M., Muller, B.W., Puttipipatkachorn, S., 1999. Physico-chemical characterization of interactions between erythromycin and various film polymers. *Int. J. Pharm.* 186, 109–118.
- Serajuddin, A.T., 1999. Solid dispersion of poorly water-soluble drugs: early promises, subsequent problems, and recent breakthroughs. *J. Pharm. Sci.* 88, 1058–1066.
- Sethia, S., Squillante, E., 2004. Solid dispersion of carbamazepine in PVP K30 by conventional solvent evaporation and supercritical methods. *Int. J. Pharm.* 272, 1–10.
- Shin, S.C., Kim, J., 2003. Physicochemical characterization of solid dispersion of furosemide with TPGS. *Int. J. Pharm.* 251, 79–84.
- Six, K., Verreck, G., Peeters, J., Brewster, M., Van Den Mooter, G., 2004. Increased physical stability and improved dissolution properties of itraconazole, a class II drug, by solid dispersions that combine fast- and slow-dissolving polymers. *J. Pharm. Sci.* 93, 124–131.
- Soliman, M.S., Khan, M.A., 2005. Preparation and in vitro characterization of a semi-solid dispersion of flurbiprofen with Gelucire 44/14 and Labrasol. *Die Pharm.* 60, 288–293.
- Verreck, G., Six, K., Van den Mooter, G., Baert, L., Peeters, J., Brewster, M.E., 2003. Characterization of solid dispersions of itraconazole and hydroxypropylmethylcellulose prepared by melt extrusion—Part I. *Int. J. Pharm.* 251, 165–174.
- Verreck, G., Vandecruys, R., De Conde, V., Baert, L., Peeters, J., Brewster, M.E., 2004. The use of three different solid dispersion formulations – melt extrusion, film-coated beads, and a glass thermoplastic system – to improve the bioavailability of a novel microsomal triglyceride transfer protein inhibitor. *J. Pharm. Sci.* 93, 1217–1228.
- Wang, X., Michoel, A., Van den Mooter, G., 2005. Solid state characteristics of ternary solid dispersions composed of PVP VA64, Myrj 52 and itraconazole. *Int. J. Pharm.* 303, 54–61.
- Wexler, D.S., Gao, L., Anderson, F., Ow, A., Nadasdi, L., McAlorum, A., Urfer, R., Huang, S.G., 2005. Linking solubility and permeability assays for maximum throughput and reproducibility. *J. Biomol. Screen.* 10, 383–390.
- Yuksel, N., Karatas, A., Ozkan, Y., Savaser, A., Ozkan, S.A., Baykara, T., 2003. Enhanced bioavailability of piroxicam using Gelucire 44/14 and labrasol: in vitro and in vivo evaluation. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 56, 453–459.